



**Universidade Nova de Lisboa**  
**Instituto de Higiene e Medicina Tropical**

Lesões causadas pelos ovos de *Schistosoma haematobium* como  
fator de risco em doenças crónicas urinárias das zonas endémicas  
de Angola.

**Jacinta Teresa Gomes Chaves de Matos Figueiredo**

**DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS  
BIOMÉDICAS, ESPECIALIDADE DE PARASITOLOGIA.**

**AGOSTO, 2014**



**Universidade Nova de Lisboa**  
**Instituto de Higiene e Medicina Tropical**

Lesões causadas pelos ovos de *Schistosoma haematobium* como  
fator de risco em doenças crónicas urinárias das zonas endémicas  
de Angola.

**Autora:** Jacinta Teresa Gomes Chaves de Matos Figueiredo

**Orientadora:** Professora Doutora Maria Amélia Grácio (IHMT/UNL)

**Coorientadores:** Professora Doutora Silvana Belo (IHMT/UNL)

Professor Doutor Manuel Videira (SU/HAB)

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de  
Doutor em Ciências Biomédicas, Especialidade de Parasitologia.

**Financiamento:** Bolsa concedida pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) no âmbito do  
“Programa Ciência Global” SFRH/BD/51460/2011.

**Com base nos resultados obtidos durante a realização do projeto de doutoramento foram publicados os seguintes artigos científicos:**

### **I Artigo**

Figueiredo, J, Richter J, Belo S, Grácio M.A. 2013 .Urogenital Schistosomiasis Presenting Genital and Urinary Tract Lesions and Abdominal Discomfort in a Steril Angolan Woman. J Genit Syst Disor 2:3. do i:10.4172/2325-9728.1000115

### **II Artigo**

Figueiredo, J., Santos. A., Clemente, H., Lourenço, A., Costa, S., Grácio, M.A., Belo. S. 2014. Schistosomose e apendicite aguda: a propósito de dois casos clínicos. Acta Médica Portuguesa. Acta Med Port 2014 May-Jun; 27(3):396-399

### **III Artigo**

Figueiredo, J., B., Nilo, M, Balaca, A., Costa, Richter, J., S., Belo, S., Grácio, M.A., 2014. Prostate adenocarcinoma associated with prostatic infection due to *Schistosoma haematobium*. Case report and systematic review. Parasitol Res: Do i:10.1007/00436-014-4250-9.

### **Apresentações em congressos**

Figueiredo, J., Belo S., Afonso, A., Videira M., & Grácio M.A., 2013. Lesões causadas pelos ovos de *Schistosoma haematobium* como fator de risco em doenças urológicas nas áreas endémicas de Angola. Resultados preliminares. Jornadas do IHMT/Lisboa, 12 de Dezembro.

Figueiredo, J., Videira, M., Guilherme, M., Grácio, M. A., Richter J., & Belo. S., 2013. Urinary Tract Morbidity due to *S. haematobium* in patients attending Américo Boavida Hospital, Luanda, Angola. 8th European on Tropical Medicine and International Health (Copenhaga, 10-13 Sept). Trop Med Int Health; 18 (Issue Supplement s1): Abstract nº 190.

Figueiredo, J., Videira, M., Guilherme, M., Grácio, M.A., & Belo. S., 2013. Co morbilidade urogenital associada a infeção crónica por *Schistosoma haematobium* em Angola. XXXIV Congresso Brasileiro de Urologia, 16 a 20 de Novembro, Natal Brasil: Abstract nº 859

Figueiredo, J., Belo S., Afonso, A., Videira M., & Grácio M.A., 2010. Análise dos fatores de risco de transmissão de *Schistosoma haematobium* para a população adulta em Angola., Jornadas Científicas do Hospital Américo Boavida. Livro programas, p 59.

Figueiredo, J., Belo, S., Videira M., Mikaelov, P., Grácio, M. A., 2009. Detecção de carcinoma da bexiga pelo teste NMP22 em áreas endémicas de schistosomose vesical, Angola. Resultados preliminares. XI Congresso Ibérico de Parasitologia. Acta Parasitológica Portuguesa, 16 (1/2): 318-319.

Figueiredo, J., Belo, S., Videira M., Mikaelov, P., Grácio, M. A., 2009. Estudo piloto sobre epidemiologia e morbilidade da schistosomose como infeção específica do trato urinário na população de Angola. Congresso Brasileiro de Urologia Centro de convenções de Goiânia de 7 a 11 de Novembro de 2009. Livro de programas p27.

## **Dedicatória**

Contribuir para o conhecimento da doença é preveni-la; dedico este trabalho a todos os doentes com complicações de schistosomose.

## Agradecimentos

À minha orientadora Professora Doutora Maria Amélia Grácio, com admiração e, pela oportunidade, incentivo, dedicação no acompanhamento da realização da tese, pela aposta que fez em mim e pelos seus conselhos, ensinamentos e críticas, a minha gratidão pela maneira como me entusiasvou para este desafio científico.

À minha coorientadora Professora Doutora Silvana Belo, pela paciência, carinho e dedicação nos seus ensinamentos, mostrar-me o caminho da sua sabedoria e obrigada por ter aceite ser minha coorientadora.

Ao meu coorientador Professor Doutor Manuel Videira, pelo apoio que nos deu na investigação realizada no Hospital Américo Boavida de Luanda e pela sua sempre pronta disponibilidade para nos tirar todas as dúvidas que nos iam surgindo.

À Doutora Ana Afonso, Professora Manuela Calado, Professora Isabel Maurício e Tiago Mendes, pelo seu apoio na elaboração dos exames de biologia molecular.

Ao Ministério da Saúde de Angola, Serviço de Endemias e em particular ao Prof. Doutor Filomeno Fortes pelo seu apoio na investigação.

À Direção do Hospital Américo Boavida, Dra. Constantina Furtado, pela oportunidade que me deu para realizar o projeto de doutoramento.

À Dra. Maria Lina Antunes, do Hospital Américo Boavida, pelo apoio no material de colheita e disponibilidade do laboratório para a realização dos exames parasitológicos.

Ao Professor Doutor Peter Mikaelov pela força e entusiasmo que me transmitiu para a realização deste doutoramento.

Ao corpo clínico de Anatomopatologia da Faculdade de Medicina da Universidade Agostinho Neto de Angola, Dr. Mateus Guilherme e Dra. Sandra Silva e ao técnico Gomes Panzo pela preparação histológica das lâminas e respetiva interpretação.

À Faculdade de Medicina e ao Professor Doutor Miguel Bettencourt pelo seu apoio, interesse e dedicação na investigação científica.

Aos Drs. Augusto Lourenço, Ângela Santos e Horácio Clemente pelo apoio e interesse em contribuir para esta investigação.

Às Dras Domingas e Iracema Americano pelo apoio nos casos de ginecologia. Ao Dr. Pedro António pela atenção com que nos recebeu na província da Lunda Norte e caloroso apoio nos trabalhos de campo.

Ao chefe de Serviço de Urologia do Hospital Américo Boavida, Dr. Nilo de Vaz Borja pela atenção, carinho e entusiasmo com que acompanhou o nosso trabalho.

Aos meus colegas do Serviço de Urologia do Hospital Américo Boavida, Drs. Antonino Balaca, Heriberto Bigman, Adão Francisco, Simão Boano, Júlio Henriques, Isuela Simão, Afonso Paxe, Manbela M'bela, Guimarães Gaio, Catarina Teixeira, Luaschi Gabriel, Elisandra Mota e Daise Fernandes pelo apoio prestado durante a elaboração do trabalho.

Aos enfermeiros Guilherme e Lúcia pelo apoio na preparação da sala de endoscopia e ajuda na lavagem do material de cistoscopias.

Ao Doutor Pedro Ferreira, do grupo de Helminologia e Malacologia Médicas do IHMT, pela sua disponibilidade e prontidão no apoio prestado.

À Fundação para a Ciência e Tecnologia de Lisboa (FCT), por nos ter concedido a Bolsa que tornou possível a realização da presente tese de Doutoramento.

À memória do meu pai, pela força e incentivo que me deu para realizar investigação científica e por tudo que fez por mim desde pequena.

Às memórias do Professor Sílvio de Almeida e de José Figueiredo, pela coragem e incentivo que me transmitiram para incluir nas minhas atividades a investigação científica.

À minha mãe, pela coragem, apoio, ensinamentos, sabedoria nestes longos caminhos da vida, durante toda minha trajetória científica, amiga e companheira de todos os momentos, pelo apoio à minha filha enquanto eu viajava para trabalhos científicos, apoiando-a como segunda mãe, o meu muito obrigado.

Aos meus irmãos Hernâni Chaves, Mário Chaves, cunhada Stephanie Chaves e prima Maria dos Anjos pelo apoio, dedicação, ajuda e companheirismo em todos os momentos.

À minha querida filha Karine Figueiredo, pelo amor, dedicação, entendimento e sacrifício que me mostrou durante a elaboração deste trabalho e que este seja um exemplo para o seu futuro e dele guarde uma boa recordação.

A toda a minha família e amigos pela contribuição sobretudo o Dr. Adriano Cristóvão e Dr. Vitor Simões.

Aos doentes pela sua prontidão na participação deste projeto de investigação e por acreditaram no tratamento curativo da doença.

## RESUMO

A schistosomose ou bilharziose é uma parasitose aguda e crónica, causada por várias espécies de tremátodes do género *Schistosoma*. Considerando que a schistosomose por *S. haematobium*, cujas lesões podem ter graves consequências para a saúde humana, é endémica em Angola, o seu estudo e o seu controlo tornam-se imperiosos. Nesse contexto, a presente tese tem por objetivo geral caracterizar as lesões clinico-patológicas causadas por *S. haematobium* e os potenciais fatores associados à parasitose em Angola.

Durante o período de realização do estudo (2011-2013), 1671 utentes recorreram à consulta de Urologia do Hospital Américo Boavida em Luanda, Angola, dos quais 189 (10,7%) integravam os critérios de inclusão pré definidos. Dos doentes avaliados 97 (51,3%) eram mulheres e 92 (48,7%) homens, com idades compreendidas entre os 14 e 77 anos (média 37,9 anos), originários de 13 das 18 províncias do país.

O exame parasitológico da urina foi positivo em 46 doentes (24,3%), sendo a média da carga parasitária de 23,1 ovos/10ml. Quanto à idade, verificou-se o padrão clássico da parasitose, com o pico da infeção no grupo dos 14-28 anos e com diferenças significativas ( $\chi^2$ ,  $P<0,001$ ) em relação aos outros grupos etários. Tanto a infeção como a intensidade do parasitismo eram mais frequentes na população feminina (54,3%) comparativamente ao masculino (45,7%), com diferenças significativas em relação à carga parasitária ( $\chi^2$ ,  $P=0,044$ ). A hematúria foi o sinal mais frequentemente referido pelos doentes (93%). Os resultados da ecografia renal e pélvica demonstraram que 167 (88,3%) tinham alterações na bexiga enquanto em 75 (34,4%) se detetaram lesões renais de grau variado.

No exame de uretrocistoscopia verificou-se que a quase totalidade dos doentes (98,4%) apresentava lesões vesicais em diferentes estádios de evolução causadas por *S. haematobium*. Constatou-se uma elevada concordância entre as alterações visualizadas na ecografia com as obtidas na uretrocistoscopia e histologia com os métodos de diagnóstico de tumor vesical, a citologia da urina e o teste NMP22 BladderChek®. A maioria dos doentes apresentava cistite crónica (75,7%) e em 42 (22,3%) foram identificados carcinomas dos tipos epidermoide (CE) e de células transicionais (CCT).

A ocorrência de co-morbilidade de lesões urológicas e schistosomose ectópica foi observada em 28 doentes. Após conduta terapêutica e/ou cirúrgica, 149 doentes tiveram alta por cura e 16 passaram a ser seguidos na Oncologia. A taxa de mortalidade foi de 30% (9/29) nos doentes oncológicos e um caso por insuficiência renal crónica com atrofia renal bilateral. Os resultados preliminares de RAPD-PCR sugerem a existência de existência de alta variabilidade genética inter e intrapopulacional de *S. haematobium* a nível regional. O presente estudo comprova não só a infeção schistosómica na população adulta como evidencia as consequências fisiopatológicas resultantes da retenção crónica dos ovos nos tecidos, com ênfase na associação entre *S. haematobium* e neoplasia da bexiga. Consideramos de maior relevância a inclusão da população adulta nos programas de controlo da schistosomose, de modo a evitar a evolução da doença e a intervenção clínica adequada mais precoce, o que irá permitir um melhor prognóstico e consequente qualidade de vida.

Palavras-chave: *Schistosoma haematobium*; uropatologia; jovens; adultos; Angola



## ABSTRACT

Schistosomiasis or bilharziasis is an acute or chronic disease caused by intravascular trematodes of the genus *Schistosoma*. Due to the high endemicity of *S. haematobium* in Angola, causing a wide range of urinary tract abnormalities (UTA) in infected people and consequently a negative impact on human health, research and interventions are warranted for disease control.

In order to contribute for a better knowledge of schistosomiasis in Angola, this study aimed to characterize major urinary tract pathologies related to *S. haematobium* infection and the potential risk factors associated to the disease,

A prospective study was conducted in patients attending the Urology Service, at Américo Boavida Hospital in Luanda, Angola, from 2011 to 2013. Out of the 1671 who attended, 189 (10.7%) matched the inclusion criteria. Ninety-seven (51.3%) women and 92 (48.7%) men, aged from 14 to 77 years of age (median age 37.9 years), from 13 of the 18 provinces of the country were enrolled in the study. Clinical evaluation was done by parasitological, imaging and histopathology procedures.

*Schistosoma haematobium* eggs were found in 46 (24.3%) of the patients with a mean infection intensity of 23.1 eggs per 10 ml of urine. As common seen in schistosomiasis, the prevalence was significantly higher ( $\chi^2$ ,  $P<0,001$ ) in the young adult age group (18-28 years). Both infection and intensity were higher in females (54.3%) as compared with males (45.7%), however statistically significant differences were only found for parasite load ( $\chi^2$ ,  $P=0,044$ ). Haematuria was the main sign reported by patients (93%), whereas bladder or renal lesions, of variable degrees and as detected by renal pelvic ultrasound (US), were found in 167 (88.3%) and 75 (34.4%) patients, respectively.

Cystoscopy revealed vesical lesions related to *S. haematobium* in different advanced stages in almost all patients (98.4%). Furthermore, a high correlation was observed between urinary tract abnormalities, detected by US, cytology and histology, with those found through urine cytology and NMP22 BladderChek® tests for detection of bladder tumors.

Chronic cystitis was the predominant pathological feature observed in these patients (75.7%) while squamous cell carcinoma (SCC) and transitional cell carcinoma (TCC) were identified in 42 (22.3%) patients. Moreover, ectopic schistosomiasis associated to UTA was diagnosed in 28 patients.

After specific treatment (drug therapy and/or surgery), 149 patients were considered cured and 16 were placed under oncology surveillance. During the study period the mortality rate was 30% (9/29) among the oncologic patients and one death occurred due to kidney failure with bilateral obstructive uropathy.

Preliminary data based on RAPD-PCR suggested the occurrence of inter and intraspecific genetic diversity among *S. haematobium* isolates from patients of the main three regions.

This study confirms the presence of urinary schistosomiasis in the adult population and highlights the pathophysiological alterations induced by *S. haematobium* eggs retained in human tissues, in particular the association between this parasite and bladder cancer. Therefore, we consider that the adult population should also be included in schistosomiasis control programs in order to prevent the disease evolving to the last stages and early specific treatment should be provided, which might result in better prognosis and patient's quality of life.

**Keywords:** *Schistosoma haematobium*; urinary pathology; youth; adults; Angola.

## ÍNDICE GERAL

Agradecimentos .....	ix
Resumo .....	xi
Abstract.....	xii
Índice geral .....	xiii
Índice de figuras.....	xvi
Índice de tabela .....	xvii
Lista de Abreviaturas .....	xviii
Introdução .....	1
1.1 Schistosomose .....	2
1.1.1 História .....	3
1.2 Epidemiologia global .....	4
1.3 Situação epidemiológica da schistosomose em Angola.....	5
1.3.1 Prevalência da schistosomose em Angola.....	7
1.3.2 Caracterização geográfica de Angola .....	8
1.3.3 Condições socioeconómicas do país .....	8
1.4 Género <i>Schistosoma</i> spp -Sistemática e Taxonomia .....	9
1.4.1 Morfologia geral e biologia .....	9
1.4.2 Ciclo de vida.....	10
1.5 Interação hospedeiro parasita .....	11
1.5.1 Quadro clínico da schistosomose .....	13
1.5.2 Schistosomose urinária .....	13
1.5.3 Tumor vesical e <i>S. haematobium</i> .....	15
1.5.4 Lesões ectópicas .....	16
1.5.5 Outros agentes patogénicos e <i>S. haematobium</i> .....	18
1.6 Diagnóstico .....	19
1.7 Tratamento .....	21
1.8 Medidas de prevenção e de controlo .....	22
Material e métodos.....	25
2.1 Procedimentos éticos.....	26
2.1.1 Local e metodologia de estudo .....	26
2.1.2 Critérios de inclusão e exclusão .....	27
2.2 Procedimentos dos exames complementares .....	28
2.2.1 Colheita e processamento de urina .....	28

2.2.2 Diagnóstico parasitológico de <i>S. haematobium</i> .....	29
2.2.3 Exame citológico da urina .....	29
2.2.4 Teste imunocromatográfico NMP22BC® .....	29
2.3 Exames complementares de diagnóstico clínico-patológico.....	30
2.3.1 Exames imagiológicos .....	30
2.3.2 Exame endoscópico .....	32
2.3.3 Exame histológico .....	33
2.4 Conduta com o doente.....	34
2.5 Caracterização genética de amostras de <i>S. haematobium</i> .....	34
2.5.1 Extração ADN genómico .....	34
2.5.2 Amplificação de RAPD-PCR .....	35
2.6 Análise estatística .....	36
Resultados.....	38
3.2 Amostra e distribuição da população estudada .....	39
3.2.1 Perfil sociodemográfico.....	39
3.2.2 Resultados dos exames parasitológicos.....	42
3.3 Resultados imagiológicos.....	46
3.3.1 Resultado de exames ecográficos .....	46
3.3.2 Achados dos exames radiológicos.....	48
3.4 Lesões observadas por endoscopia.....	49
3.5 Resultados histológicos .....	52
3.5.1 Características morfológicas dos carcinomas e estadiamento (TAC).....	55
3.6 Avaliação da citologia urinária e do biomarcador NMP22 BLADDERCHEK® .....	56
3.6.1 Perfil demográfico e parasitológico .....	57
3.7 Resultados globais dos exames complementares efetuados.....	59
3.8 Localizações atípicas de <i>Schistosoma</i> spp e consequente patologia.....	60
3.8.1 Evolução clínica e estado da alta dos doentes .....	61
3.9 Caracterização genética de <i>S. haematobium</i> : resultados preliminares.....	63
3.9.1 Amplificação aleatória de polimorfismos de ADN (RAPD).....	63
3.9.2 Variabilidade genética entre as populações de <i>Schistosoma haematobium</i> ...	64
Discussão .....	66
Conclusões .....	79
Referências.....	83
5.1 Referências Bibliográficas .....	84

Anexos .....	113
6.1 Anexo I.....	114
6.1.1 Mapa administrativo de Angola (adaptado de Roosbroeck, <i>et al.</i> , 2006) ....	114
6.2 Anexo II .....	115
6.2.1 Protocolos da Unidade de Helminologia e Malacologia Médicas) .....	115
6.2.2 Ficha de dados sociodemográficos e clínicos.....	116
6.2.3 Consentimento informado e declaração da aprovação do projeto.....	120
6. 3 Anexo III .....	123
6.3.1 Caraterísticas de Graus de tumor classificação TNM .....	123

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição geográfica global de <i>Schistosoma</i> spp. ....	5
Figura 2: Distribuição e prevalência da schistosomose urinária em Angola. ....	7
Figura 3: Ciclo de vida de <i>Schistosoma</i> spp. ....	11
Figura 4: Hospital Américo Boavida. ....	26
Figura 5: Metodologia de realização dos exames complementares. ....	27
Figura 6: A) Kits (Teste de NMP22) e B) Frascos de plástico com urina. ....	30
Figura 7: Aparelho usado para visualizar imagens durante a cistoscopia. ....	32
Figura 8: Distribuição dos doentes segundo a sua residência. ....	41
Figura 9: Distribuição da população em estudo segundo a atividade. ....	41
Figura 10: Prevalência de <i>S. haematobium</i> . ....	42
Figura 11: Prevalência e intensidade da infeção por <i>S. haematobium</i> . ....	42
Figura 12: Sinais e sintomas dos doentes referidos pelos doentes. ....	44
Figura 13: Prevalência das lesões observadas na ecografia nos grupos etários. ....	47
Figura 14: Imagens ecográficas em tempo real com lesões visíveis em doentes ....	48
Figura 15: Lesões observadas por radiografia. ....	49
Figura 16: Lesões endoscópicas visíveis sob visão ótica. ....	52
Figura 17: Resultados histológicos de fragmentos vesicais ovos de <i>S. haematobium</i> . ..	54
Figura 18: Carcinoma epidermoide com presença de ovos de <i>S. haematobium</i> (Setas) ...	55
Figura 19: Frequência de tumores em relação ao grupo etário. ....	57
Figura 20: Fragmento de tecido e resultado histológico dos seguintes órgãos. ....	61
Figura 21: Gel de agarose a 1,5%, M=Marcador molecular (2000pb). ....	63

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Dados do Boletim epidemiológico do MINSA de 2009 a 2012.....	6
Tabela 2: Espécies de <i>Schistosoma</i> e seus hospedeiros intermediários. ....	10
Tabela 3: <i>Primers</i> utilizados na amplificação de RAPD-PCR / sequências de nucleótidos. ....	35
Tabela 4: Perfil sociodemográfico dos doentes analisados. ....	40
Tabela 5: Características demográficas em relação à infecção de <i>S. haematobium</i> . ....	43
Tabela 6: Relação entre os sinais e sintomas referidos pelos doentes e o estado parasitológico. ....	45
Tabela 7: Prevalência das lesões visíveis por ecografia em relação à infecção e sexo. ....	46
Tabela 8: Lesões vesicais causados por <i>S. haematobium</i> observadas por cistoscopia. ....	50
Tabela 9: Grupo etário e alterações vesicais por cistoscopia. ....	51
Tabela 10: Tipo histológico associado a presença de ovos de <i>S. haematobium</i> . ....	53
Tabela 11: Grau de invasão e diferenciação dos carcinomas. ....	56
Tabela 12: Comparação dos resultados histológicos com a citologia e teste NMP22. ....	56
Tabela 13: Frequência das lesões schistosômicas, demográficas e estado parasitológico. ....	58
Tabela 14: Análise multivariada dos fatores associados a neoplasia vesical. ....	59
Tabela 15: Relação da ecografia com os exames de diagnóstico. ....	60
Tabela 16: Número de bandas polimorfismórficas obtidas com os quatro <i>primers</i> . ....	64
Tabela 17: Índice de Shannon ( <i>Ho</i> ) e diversidade genética ( <i>He</i> ) <i>S. haematobium</i> (províncias). ....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>Sigla</b>	<b>Significado</b>
ART	Artemether
BTA	Antigénio Tumoral da Bexiga
BC	Blandder –chek
BD	Bolsa Doutoramento
Cis	Carcinoma <i>in situ</i>
CDC	Centers for Disease Control
CID	Código Internacional de Doença
CHR	Cercarien Hullen Reaktion
Cp	Comprimido
CTAB	Cetyltrimrthylammonium Bromide
DALYs	Disability Adjusted Life Years
DNA	Àcido desoxirribonucleico
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
EDTA	Ácido -Etileno-Diamino-Tetra-Acético
FCT	Fundação da Ciência e Tecnologia
HBP	Hiperplasia Benigna da Próstata
HAB	Hospital Américo Boavida
IgE	Imunoglobulina E
( <i>Ho</i> )	Índice de Shannon
( <i>He</i> )	Diversidade genética
IHMT	Instituto de Higiene e Medicina Tropical de Lisboa
IF	Imunofluorescência
MINSA	Ministério da Saúde de Angola
Mhz	Megahertz
μ	microlitros
mM	milimole
MgCl <sub>2</sub> .	Cloreto de Magnésio
NMP22	Proteína Nuclear da Matriz 22
OMS	Organização Mundial da Saúde

PC	“Cobertura do Programa”
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
sp.	Uma espécie indeterminada
spp.	Várias espécies dentro do género
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SIDA	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
SCH	Schistosomose
<i>S. haematobium</i>	<i>Schistosoma haematobium</i>
TAE	Tris-Acetato-EDTA
TE	Tris-EDTA
UNL	Universidade Nova de Lisboa
VIH	Vírus de Imunodeficiência Humana
PZQ	Praziquantel
pb	Pares de base
WHO	World Health Organization.

### **Observação**

O Grafismo, Tabelas, Figuras e Fotografias do texto foram executados pela autora com exceção das Figuras 1, 2 e 3. A redação da tese está conforme o Acordo Ortográfico.



## INTRODUÇÃO

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Schistosomose

A schistosomose ou bilharziose é uma parasitose aguda e crônica, causada por várias espécies de trematódes do género *Schistosoma*, que ao longo dos tempos tem sido registada em zonas tropicais, subtropicais e temperadas e que, normalmente, se reveste de grande impacte em saúde pública, sobretudo nos países tropicais e menos desenvolvidos. Atualmente é assinalada em 78 países de três continentes, encontrando-se as mais altas endemicidades principalmente na Ásia, na África, na América do Sul e nalgumas ilhas do Caribe. A transmissão ocorre quando os indivíduos entram em contato com coleções de água doce onde estejam presentes formas larvares do parasita (cercárias) libertadas por moluscos (Gastropoda), hospedeiros intermediários do parasita (Rey, 2001).

Estima-se que a schistosomose afete, mundialmente, cerca de 240 milhões de pessoas e que mais de 700 milhões vivam em áreas endémicas, estando por isso expostas ao risco de infeção. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que daqueles 240 milhões de pessoas, 120 milhões estejam em África e sejam sintomáticos e 20 milhões possuam doença severa (Bergquist, 2002; King e Dangerfield-Cha, 2008; WHO, 2013; WHO, 2014)

As principais espécies de *Schistosoma* que infetam os humanos são *S. haematobium*, *S. japonicum* e *S. mansoni*. Podendo também ser infetados por *S. mekongi*, *S. intercalatum* e *S. guineensis*. Além disso, outras espécies de *Schistosoma*, que parasitam aves e/ou mamíferos, podem causar dermatite cercarianas em humanos (Rey, 2001).

A schistosomose por *S. haematobium* é endémica em 54 países, sobretudo na África subsariana e na região oriental do Mediterrâneo, e constitui uma forma específica de schistosomose urogenital, cujas lesões podem ter graves consequências para a saúde humana (King e Dangerfield-Cha, 2008).

### 1.1.1 História

O interesse pelo estudo das doenças endémicas começou no século XIX, Assim, em 1850 Von Siebol recomendou ao anátomo-patologista Alemão Theodor Maximillian Bilharz, a identificação de helmintas parasitas de humanos nas áreas pobres de África. Nesse contexto, Bilharz em 1851, no hospital do Kasar do Cairo, identificou um verme na veia mesentérica, (habitat não habitual em tecidos humanos) e denominou-o de *Distoma haematobium* (trematode) nome presumivelmente derivado de uma combinação das palavras gregas (Haima, haema) que significa “ sangue” e (Bios, bium) “vida, curso ou modo de vida”, para indicar que estes vermes vivem na corrente sanguínea (Grove, 1990). No cumprimento do Código de Nomenclatura Zoológica, *Distoma* foi substituído por *Schistosoma* nome derivado das palavras gregas “Schistos” que significa "dividir" e “soma” que significa "corpo". Em 1864, Harley detetou parasitas análogos na África do Sul e atribui-lhes o nome de *Bilharzia capensi* e, em 1870, Bilharz e Griesinger descreveram duas formas de ovos, uma com espícula lateral para *S. mansoni* e outra com espícula terminal (Grove, 1990). Em 1893, Manson sugeriu a existência de duas espécies de *Schistosoma* na sequência da descoberta, no Egipto, de ovos com esporão lateral em fezes humanas (Grove, 1990).

Em 1904 Kasai e Katsurada descrevem o hospedeiro vertebrado e no ano de 1907 Sambom designa a espécie de espícula terminal como *Schistosoma mansoni* e Leiper, em 1915, considerou o molusco de água doce *Bulinus* sp como responsável pela manutenção do ciclo de vida do parasita (Chatelain, 1977). Em 1958, Mandahl-Barth identificou outras espécies de *Schistosoma* em animais, nomeadamente *S. mattheei*, *S. bovis*, tendo verificado que os seus ovos apresentavam a morfologia dos ovos com espícula terminal (Grove, 1990).

#### a) História da schistosomose em Angola

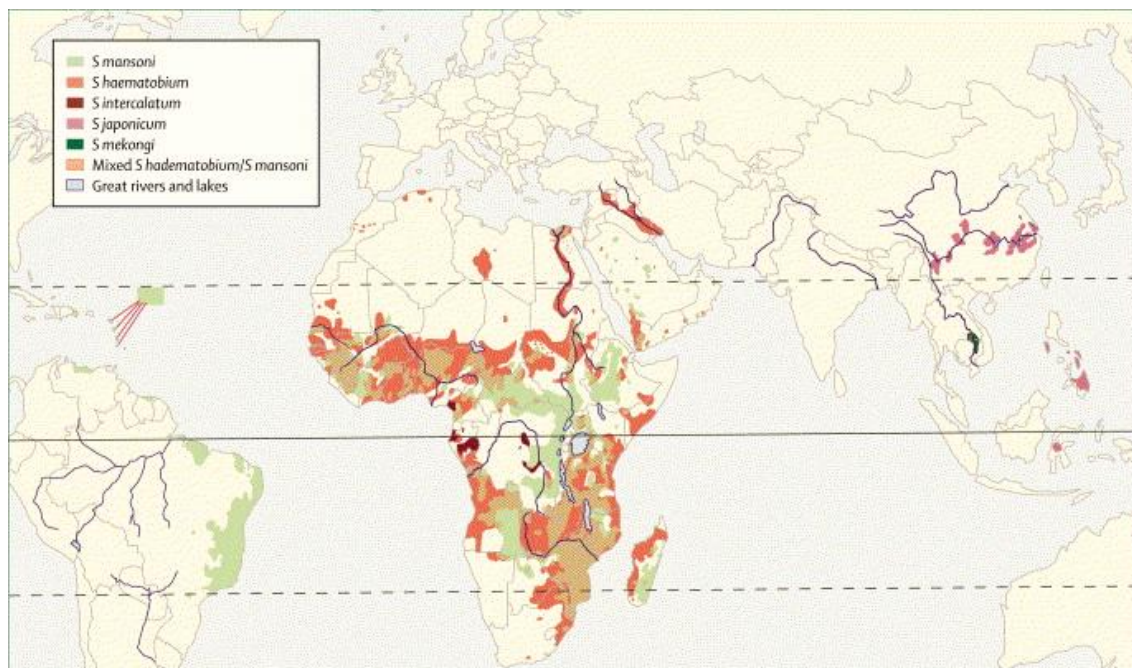
A schistosomose foi descrita em Angola, pela primeira vez, em 1896 por Aires Kopke e Bernardino Roque e em 1902 foi assinalada, por este último médico a existência da parasitose na província da Huila, em Ambriz e em Cabinda. No entanto, os boletins sanitários de 1938 a 1955 referiam casos de *S. haematobium* (Leitão, 1989). Em 1905, no

1º Congresso de Medicina em Lisboa, foram indicados novos focos de bilharziose em Angola e em 1923 iniciaram-se projetos de controlo da doença (Carvalho *et al.*, 1966; Gracio, 1977a). Em 1955, na província de Benguela, foram identificados pela primeira vez ovos de *S. mansoni* num doente proveniente da província do Moxico e nesse mesmo ano, foram identificados *Bulinus africanus* e *Biomphalaria pfeifferi* como hospedeiros intermediários de *S. haematobium* e *S. mansoni*, respetivamente (Leitão, 1989).

## 1.2 Epidemiologia global

A schistosomose é considerada uma parasitose das áreas rurais, embora cada vez mais se verifiquem focos urbanos, o que constitui um problema de saúde pública em muitos países em vias de desenvolvimento (WHO, 2006) devido à ausência de saneamento, a qual tem sido apontada pela Organização Mundial de Saúde pública (OMS) como a causa de contaminação dos cursos de água doce, com excretas humanos contendo ovos viáveis do parasita, o que permitirá a continuação do ciclo de vida quando presentes os respetivos moluscos hospedeiros intermediários. São vários os países Africanos que possuem áreas endémicas para *S. haematobium*, estando entre os mais afetados o Egito, Gâmbia, Senegal, Mali, Burquiná-Faço, Gana, Angola, Togo, Moçambique, Zâmbia, Zimbabwe, Suazilândia, África do Sul, S. Tomé e Príncipe, Benin, Chade, Senegal e Sudão (Gryseels *et al.*, 2006). Na Tunísia, desde 1982 que está erradicada graças ao êxito dos programas de controlo realizados em todo o país (Rey, 2001). Na Ásia, os focos encontram-se no Iraque, na Turquia, na Síria, no Líbano, no Irão e, com prevalências baixas, na Arábia Saudita (Montresor *et al.*, 2012; WHO, 2012).

*Schistosoma mansoni* encontra-se nas Américas e na África Subsariana, infectando humanos e animais. *Schistosoma japonicum* distribui-se pela Indonésia, China e Filipinas e *S. mekongi* tem sido registado na Bacia do Mekong Central, no Laos e no Camboja (Chitsulo *et al.*, 2004). *Schistosoma guineensis* e *S. intercalatum* estão presentes no golfo da Guiné (Grácio, 1988; Murinelo *et al.*, 2006). A Figura 1 mostra a distribuição geográfica a nível mundial, das diferentes espécies de *Schistosoma* (Gryseels *et al.*, 2006).



**Figura 1:** Distribuição geográfica global de *Schistosoma* spp.

(Adaptado com autorização do autor Gryseels (2006))

A schistosomose causada por *S. haematobium*, tem sido investigada por vários autores de diferentes países e dos resultados dessa investigação salientam-se as morbilidades no trato urinário (Friis *et al.*, 1996; King *et al.*, 2008; Garba *et al.*, 2010; Meurs *et al.*, 2012; Gouvras *et al.*, 2013). Em África, em cerca de 32 milhões de pessoas com disúria devida a schistosomose urinária houve uma evolução com uropatia obstrutiva baixa (WHO, 1998) e 10 a 18 milhões de pessoas desenvolveram diversas complicações (van der Werf *et al.*, 2003). Como resultado das complicações que causa pode ocorrer atraso no crescimento e incapacidade para atividade laboral. Por exemplo, é a causa de 11,3% de doenças em crianças de idade escolar (Savioli *et al.*, 2004) e responsável por cerca de 130.000-150.000 mortes por ano em todo o mundo (van der Werf *et al.*, 2003).

### 1.3 Situação epidemiológica da schistosomose em Angola

O quadro epidemiológico do país é caracterizado pelas grandes endemias, como Malária, Vírus de Imunodeficiência Humana (VIH) /Síndrome de Imunodeficiência Adquirida - SIDA), Tuberculose e as doenças tropicais negligenciadas (DTN), como a Schistosomose, a Tripanossomose humana, as Filariose e as Geohelmintoses. Nos últimos seis anos, registaram-se melhorias no sistema de recolha de dados, notificações e

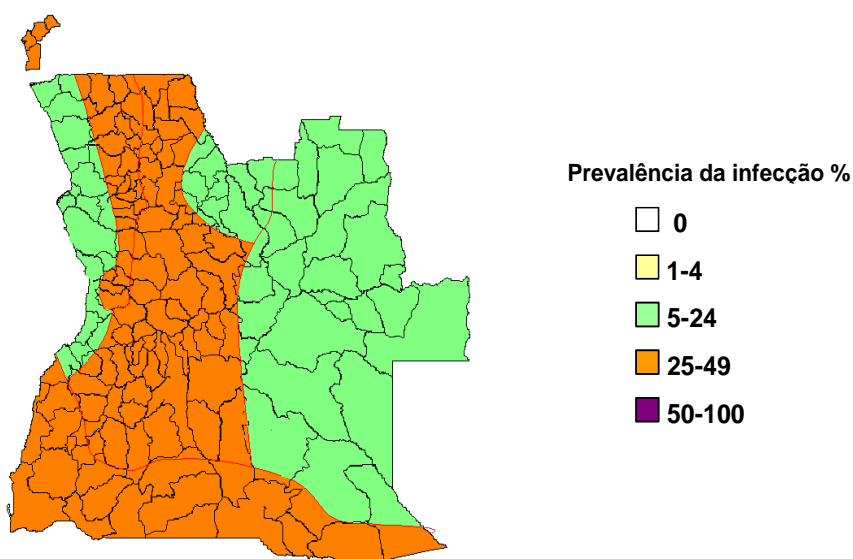
respostas a diferentes níveis do sistema de vigilância epidemiológica tendo-se registado até 100% de notificações em todas as províncias, segundo o centro de processamento de dados epidemiológicos referido em 2012. Para a schistosomose foi indicada uma morbilidade de 20.999 casos e uma mortalidade de 0,02 % de óbitos por ano (MINSA, 2012). Durante a recolha dos dados epidemiológicos pelo Ministério da Saúde de Angola (MINSA) de 2009 a 2012 (Tabela 1) verificou-se que não foram registados óbitos no ano de 2010 e que houve um aumento significativo de 13 óbitos em 2011.

**Tabela 1:** Dados do Boletim epidemiológico do MINSA de 2009 a 2012.

Ano	Casos	Óbitos	Taxa de letalidade
2009:	25788	8	0,03
2010:	21619	0	0,00
2011:	21408	13	0,1
2012:	20999	4	0,02

Os estudos realizados pelo MINSA (2005) mostraram (Figura 2) que a infeção por *S. haematobium* é endémica em todo o território, com prevalências moderadas (25 a 49%) no centro e mais baixas na costa litoral (5 a 24%). Estudos recentes evidenciaram maiores prevalências de infeção nos indivíduos com carências alimentares (Sousa-Figueiredo *et al.*, 2012). Com a globalização e o turismo em Angola poderão aparecer casos citados em outros continentes de indivíduos infetados com *S. haematobium*, como o de um caso clínico, referente a um indivíduo de origem chinesa que esteve em Angola e a quem foi diagnosticada infeção por *S. haematobium* na China (Lei *et al.*, 2007).

A estratégia recomendada pela OMS (WHO, 2001), para controlo e prevenção da Schistosomose (SCH), preconiza indicadores para o número estimado de pessoas que necessitam de Cobertura do Programa (PC) para SCH, com base no grau de endemicidade e população por grupo etário (crianças em idade escolar, adultos) em determinada região.



**Figura 2:** Distribuição e prevalência da schistosomose urinária em Angola.  
(Adaptado de MINSA, 2005).

### 1.3.1 Prevalência da schistosomose em Angola

Em Angola foram realizados vários estudos sobre prevalência de *S. haematobium* desde o início do século XIX, nomeadamente por Sarmento, em 1939, em que foram registadas em Cuchi, prevalências de 60% e 21,5 %. Em Mesquita, (1942), nos concelhos de Icolo e Bengo com 25% a 67,6%, respetivamente (Mesquita, 1952). Porém, em 1956, Janz e Carvalho descreveram prevalências de 63% e 85,2% em Catete (Luanda) Grácio, (1977a).

Grácio (1977 a, b, e c) nos seus estudos realizados na província de Benguela, registou prevalências de 93% (área do Cubal) e 29,41% (Marco de Canavezes) e em Luanda, entre 35,34% (Bom Jesus) e acima de 67% nas áreas de Quifangondo, Funda, Viana, Lagoas Quilunda e Panguila. Estudos realizados por outros autores mostraram, um aumento da prevalência da schistosomose urinária em diversas regiões do país ( Grácio e Branco, 1996; Belo, 1999; Chipopa, 2000; MINSA, 2005; Dumba, 2006; Figueiredo, 2008 e Cardoso, 2010).

Maghema (2005) interessou-se pelos significados e ações associadas à schistosomose por *S. haematobium* no bairro Sassacaria, Bengo, Angola e observou que a população conhecia a doença por outros significados mas pouco fazia para a prevenir. *Schistosoma haematobium* é a forma infetante dominante em Angola e as sucessivas

reinfeções que ocorrem nos indivíduos, levam a complicações no trato urinário. Assim, Lopes (1983) num estudo epidemiológico realizado na área do Bom Jesus (Bengo, Angola) encontrou 77,7% de infecção por *S. haematobium* e uma evidência citológica de metaplasia epidermoide associada à schistosomose em 19% dos casos. Leitão (1989), em Luanda, atribui a causa de morte por patologia urológica associada a lesões schistosomicas, em 30% dos indivíduos que apresentavam 90% de complicações entre as quais hidronefrose e carcinoma epidermoide da bexiga. Resultados de estudos realizados em Angola (Diaz Hernandez *et al.*, 1984), não diferem dos encontrados por Figueiredo, (2008) em Angola, onde se identificou *S. haematobium* em 71,7% dos doentes das províncias de Luanda, Bengo e Kwanza Sul e a sua associação a complicações no trato urinário observadas em 29 (100%) deste grupo de indivíduos que efetuaram exames ecográficos e cistoscópicos, no hospital Américo Boavida em Luanda.

### **1.3.2 Caracterização geográfica de Angola**

O território Angolano tem 618 comunas, 173 municípios e 18 províncias nomeadamente: Bengo, Benguela, Bié, Cabinda, Kunene, Huambo, Huíla, Kwanza Norte, Kwanza Sul, Kwando Kubango, Lunda Norte, Lunda Sul, Malange, Moxico, Namibe, Uíge Zaire e Luanda (Mapa) (Anexos 1). A população, em 2012, era estimada em 18.576.570 mil habitantes (MINSA, 2012). Quanto à rede hidrográfica, verifica-se que devido à configuração geográfica, existem cinco grandes bacias, o Rio Kwanza (que merece uma referência especial, pela sua extensão e afluentes atingirem as três províncias estudadas), Rio Kunene, fazendo fronteira a Sul com a Namíbia (em parte do seu curso), Rio Kubango, Rio Queve ou Cuvo, no Kwanza Sul, Rio Bengo (“Zenza”, nome dado pelo povo da região), afluente do Rio Kwanza. Existem duas estações climáticas: a estação tropical seca ou cacimbo, menos quente e que vai de Maio a Setembro e a estação tropical húmida das chuvas, mais quente, que vai de Setembro a Abril, com as temperaturas variando de 18 a 37 graus °C (pt.wikipedia.org, 2014).

### **1.3.3 Condições socioeconómicas do país**

Angola tem feito progressos significativos na melhoria da qualidade de vida da população, depois de 27 anos de guerra civil. Foram desenvolvidos esforços para alcançar os objetivos de desenvolvimento impostos pelo governo, tendo sido feito progressos na



saúde, recursos humanos e sistemas de informação. Na sua maioria a população tem baixo nível de escolaridade e socioeconómico. Quanto às formas de contato com os cursos de água doce (rios), a maioria dos indivíduos referem antecedentes e práticas das atividades nos rios e uso da água nos tanques devido a ausência de rede de canalização. Apesar das autoridades regionais terem implementado a construção de fontanários e tanques de tratamento de água, verifica-se um certo desinteresse e abandono por parte da população quanto ao seu uso, preferindo recorrer aos cursos de água naturais.

#### 1.4 Género *Schistosoma* spp -Sistemática e Taxonomia

*Schistosoma* é um endoparasita obrigatório, que apresenta um ciclo de vida complexo, com morfologia e hospedeiros diferentes em cada fase do ciclo. Faz parte de um grupo zoológico de espécies inteiramente adaptadas ao parasitismo. São trematódes digenéticos, sendo os hospedeiros definitivos os humanos e os moluscos hospedeiros intermediários. No caso de *S. haematobium* os moluscos hospedeiro intermediários são *Bulinus* spp, os quais têm como habitats coleções de água doce. Apresenta a seguinte posição sistemática (Rey, 2001):

Reino: ANIMALIA;

Filo: PLATHYHELMINTHES;

Superclasse: EUPLATHYHELMINTHES;

Classe: TREMATODA;

Subclasse: DIGENEA;

Ordem: STRIGEIFORMES;

Família: Schistosomatidae;

Subfamília: Schistosomatinae;

Género: *Schistosoma*;

Espécie *Schistosoma haematobium*

##### 1.4.1 Morfologia geral e biologia

Como já referido, as espécies de *Schistosoma* necessitam de dois hospedeiros, um definitivo (homem e/ou mamíferos) e outro, intermediário, moluscos de água doce. Os vermes adultos localizam-se no hospedeiro definitivo, são dióicos e apresentam um acentuado dimorfismo sexual. Os machos, de corpo esbranquiçado, mais curto e robusto do que o das fêmeas, mede entre 10 a 20 mm de comprimento e 0,3 a 1 mm de largura e

tem 4 ou 5 testículos (*S. haematobium*) junto da ventosa ventral. Têm o corpo cilíndrico no terço anterior, que se encontra enrolado longitudinalmente na parte média delimitando o canal ginecóforo, dentro do qual se aloja a fêmea (Rey, 2001).

As fêmeas têm o corpo alongado e filiforme com dimensões compreendidas entre 10 a 30 mm de comprimento e cerca de 0,2 mm de largura e apresentam ovário oblongo, ligeiramente lobado e único situado no terço médio do corpo. Quando se reúnem com os machos acasalam nos capilares hepáticos pré-sinusoidais dos humanos (Grove, 1990; Rey, 2001).

Os ovos são redondos ou elípticos e têm uma espícula terminal no caso de *S. haematobium* e lateral em *S. mansoni*. A espícula permite a penetração na parede dos vasos sanguíneos para virem a ser libertados na urina ou fezes, respetivamente. Os miracidios existentes no interior dos ovos eclodem após contato com a água e vão penetrar nos tecidos dos moluscos seus hospedeiros intermediários para prosseguir o ciclo de vida. Assim, existem várias espécies de moluscos (Tabela 2) inter-relacionados com as diferentes espécies de parasitas (Grove, 1990).

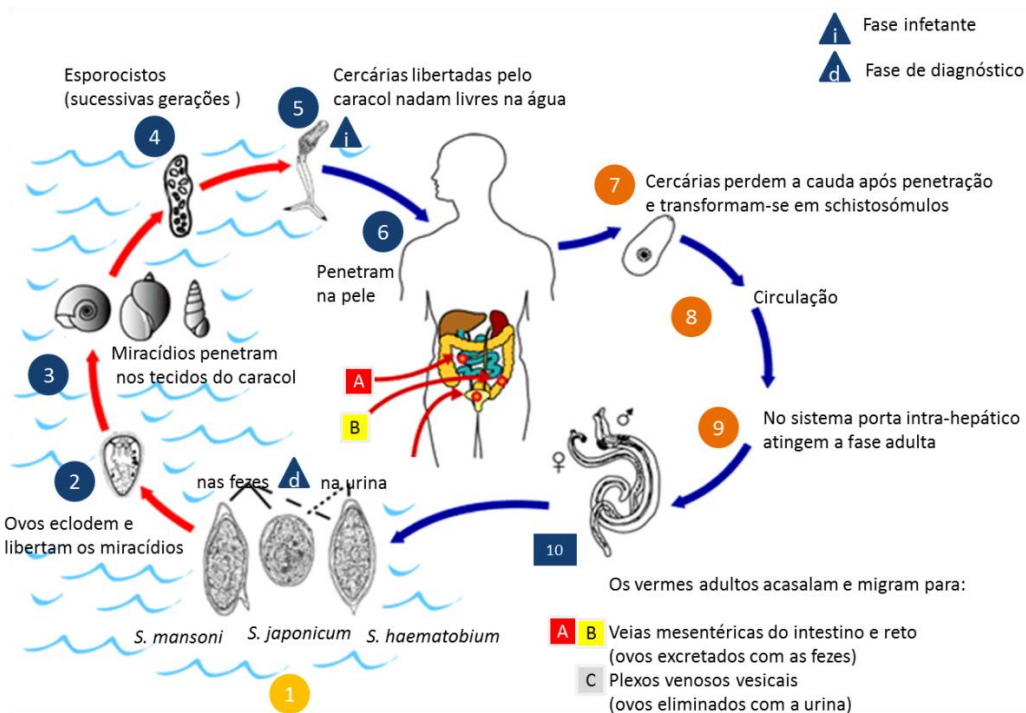
**Tabela 2:** Espécies de *Schistosoma* e seus hospedeiros intermediários.

Espécies <i>Schistosoma</i>	Moluscos
<i>S. mansoni</i>	<i>Biomphalaria</i> spp.
<i>S. haematobium</i>	<i>Bulinus</i> spp.
<i>S. intercalatum</i>	<i>Bulinus</i> spp.
<i>S. japonicum</i>	<i>Oncomelania</i> spp.
<i>S. mekongi</i>	<i>Neotricula</i> spp.

#### 1.4.2 Ciclo de vida

No ciclo de vida (Figura 3) de *S. haematobium* os ovos são eliminados pela urina <sup>1</sup>, em contato com a água doce deles eclodem os miracidios <sup>2</sup> que, por sua vez, procuram os moluscos *Bulinus* spp <sup>3</sup> para penetrar nos seus tecidos e dar origem a sucessivas gerações de esporocistos primários, que se desenvolvem em 5 a 6 semanas; estes transformam-se em esporocistos secundários (filhos) <sup>4</sup> e diferenciam-se em

cercárias <sup>5</sup> que ao penetrar na pele <sup>6</sup> perdem a cauda e nela penetram ativamente iniciando a fase larvar que é infecciosa, o schistosomulo <sup>7</sup>. Este percorre a corrente sanguínea até ao pulmão entre o 5º e 8º dia <sup>8</sup>, passa pelo coração e atinge a veia porta no fígado cerca de 14 dias após a infeção, onde atingem o estado adulto <sup>9</sup>. Após o acasalamento <sup>10</sup>, os vermes migram contra a corrente sanguínea para o local onde as fêmeas vão fazer as posturas (mucosa vesical <sup>C</sup>), depositando um número estimado de 300 a 400 ovos, pelo 65º dia. Os ovos começam a ser eliminados na urina cerca dos 70 dias pós a penetração das cercárias (Rey 2001; Grove, 1990).



**Figura 3:** Ciclo de vida de *Schistosoma* spp.

(Autorizada adaptação de CDC-DPDx)

### 1.5 Interação hospedeiro parasita

O parasita *S. haematobium* provoca no organismo humano uma resposta imunológica do tipo celular e humoral. Estudos imunológicos demonstraram que indivíduos infetados, adquirem um grau de proteção (imunidade concomitante) que promove um certo grau de destruição dos parasitas nas reinfeções, principalmente durante a passagem do schistosómulo pelo pulmão (Rey, 2001; Conceição e Silva, 2005). A

resposta imunológica leva à destruição dos parasitas na presença de anticorpos letais, citotoxicidade de eosinófilos, neutrófilos dependentes de anticorpos e a citotoxicidade celular dependente de complemento e ativação de macrófagos (El-Din *et al.*, 1983). A existência de recetores para IgG e IgE promovem a destruição dos schistosómulos (Rey, 2001).

Estudos sobre níveis de histamina, imunoglobulina E (IgE) e contagem de eosinófilos em relação às manifestações clínicas da schistosomose concluíram que os níveis de histamina no soro estavam significativamente aumentados nos doentes crónicos e agudos. Estes resultados apoiam o argumento de que a histamina e outros componentes do sistema imune podem desempenhar um papel importante na fisiopatologia de diferentes fases da schistosomose (El-Din *et al.*, 1983). Tem sido observado que o perfil de citocinas produzidas está associado à suscetibilidade ou à resistência do indivíduo à infeção schistosómica e à formação de granulomas (Phillips *et al.*, 1980). A aderência dos macrófagos aos ovos após a postura, forma massas sinciciais multinucleadas, promovendo lentamente a digestão de restos do parasita (Belo, 1999).

Estudos histológicos, identificaram infiltrados granulomatosos em indivíduos infetados cronicamente pelo parasita, com presença de monócitos, eosinófilos, fibroblastos, mastócitos, plaquetas e células plasmáticas que são bastantes ativas na fagocitose para o género *Schistosoma*. O achado histopatológico é uma formação de granulomas periovulares, reação provocada pela presença dos ovos de *S. haematobium* (Jourdan *et al.*, 2013). Vários estudos indicam que o granuloma funciona como corpo estranho devido à resposta imune contra as substâncias segregadas pelas glândulas cefálicas do miracídio que é constituída por células mononucleares (Kassis *et al.*, 1978; Booth *et al.*, 2004).

Em modelos animais, foram observados macrófagos à volta dos ovos, infiltrados de células gigantes multinucleadas e os eosinófilos elevados nas fases exsudativa inicial e nas reações periovulares. Após a morte do miracídio, a camada mais interna de fibras retrai-se e a camada paracentral devido à pressão dos tecidos é pressionada para dentro e, normalmente, a inflamação persiste quando o macrófago é pigmentado, mas quando se forma a matriz extracelular estroma/parênquima o granuloma pode desaparecer (Phillips *et al.*, 1980; Conceição e Silva 2005).

### 1.5.1 Quadro clínico da schistosomose

Após a penetração do parasita pela pele, o período de incubação varia de 1 a 4 meses sendo frequente a presença de irritação com prurido, descrita sobretudo em áreas endêmicas de África, como dermatite cercarianas no local de entrada do parasita (Obasi *et al.*, 1986; Brant *et al.*, 2010; Gohardehi *et al.*, 2013; Vargas *et al.*, 2013). A doença evolui em duas fases, aguda e crónica: a fase aguda pode caracterizar-se por quadro febril devido a síndrome toxémica (febre de Katayama) (Stuiver *et al.*, 1984), mal-estar, cefaleias, dores mio-articulares, sendo este quadro mais comum em visitantes de zonas endêmicas e pouco observado em moradores (Bou *et al.*, 2001; Bottieau *et al.*, 2006). A presença de eosinofilia com valores entre 30 a 50% (Bierman *et al.*, 2005), sintomas urinários associados a hematúria terminal, disúria, hipogastralgia, polaquiúria, são sinais e sintomas frequentes em indivíduos (Danso-Appiah *et al.*, 2010).

Na fase crónica o indivíduo apresenta, geralmente, hematúria terminal ou total, lombalgia, cistite crónica com complicações renais nomeadamente uretero-hidronefrose com evolução para insuficiência renal (Smith, 1994; Alvarez Maestro *et al.*, 2010). Nesta fase existem dois estádios, o primário (ativo), que é mais frequente em crianças e adolescentes e no qual ocorre o despreendimento dos ovos da parede vesical para a urina, podendo ocorrer com presença de hematúria terminal ou total e, nos casos mais avançados, associar-se a alterações renais com proteinúria (Kassim, 1989; Campbell *et al.*, 2014). No estágio secundário, os ovos acumulam-se na submucosa, sobretudo em adultos, sendo a excreção dos ovos na urina escassa ou ausente, porque os ovos fixam-se nos tecidos, com deposição de calcário no interior o que causa calcificação dos tecidos, provocando lesões extensas a outros órgãos (Rey, 2001).

### 1.5.2 Schistosomose urinária

A pesquisa bibliográfica mostra que *S. haematobium* pode ter outras localizações para além do aparelho urinário onde causam lesões (Buxey e Satasivam, 2012), nomeadamente órgãos pélvicos masculino e feminino, devido à sua irrigação sanguínea (Chatelain, 1977). Inicialmente as alterações são na pele, onde causam dermatites cercarianas, antes de atingirem a bexiga (Kolarova *et al.*, 2013). Contudo há referências de alterações patológicas na mucosa vesical após contato com os ovos de *S. haematobium*,

com desenvolvimento de cistites agudas que com o passar do tempo, se tornam crônicas (De Barros, 1953; Ruiz Perez *et al.*, 1990; Fiel *et al.*, 1999).

Na bexiga, os ovos uma vez depositados na mucosa vesical, provocam lesões locais com hiperemia e originam reações granulomatosas que evoluem para fibrose, resultando em cistites crônicas. Inicialmente, formam-se na mucosa nódulos subepiteliais amarelados que se concentram a nível do trígono vesical, conduzindo a hiperplasia, fibrose e hipertrofia muscular que evolui para lesões polipoides, na bexiga vão observar-se manchas arenosas, tubérculos e ulcerações sendo estas últimas em fase avançada desprendem-se devido a necrose das placas infiltradas pelos ovos (Abdel-Hadi e Talaat, 2000; Conceição e Silva., 2005; Bamgbola, 2014). O parasita pode habitar no organismo humano num período de 20 a 30 anos, embora a sobrevivência média varie de 5 a 10 anos (Warren *et al.*, 1973) o que faz com que vá efetuando posturas ciclicamente, sendo alguns ovos eliminados na urina enquanto outros ficam aderentes às paredes da bexiga.

A deposição e a calcificação dos ovos na mucosa vesical pode provocar instabilidade da motilidade do detrusor e causar gotejamento persistente podendo haver ocasionalmente formação de fístulas perineais, sobretudo na ausência de tratamento precoce. Chatelain (1977) descreve estudos feitos por Cheever em (1975) em que observou na mucosa vesical lesões em fragmentos histológicos com 504.000 a 1.031 000 ovos por grama de tecido. A concentração de 260 000 a 710 000 ovos por cm<sup>2</sup> de área vesical vai corresponder à calcificação, que pode ter tradução radiológica nas bexigas retráteis designadas por “bexigas de porcelana” (Walker *et al.*, 1997; Patel *et al.*., 2012). A formação dos cálculos urinários ocorre em consequência das alterações superficiais da mucosa vesical pelos processos inflamatórios de estase primários ou secundários, sendo geralmente de oxalato de cálcio e ácido úrico (Chatelain, 1977), também podem surgir outras complicações como fístulas, divertículos e metaplasia da mucosa vesical (Rey, 2001).

Devido à irrigação comum do terço inferior do ureter e à proximidade anatômica com a bexiga, pode haver comprometimento dos ureteres com estenose e evolução para obstrução com dilatação da árvore ureteropielica (Neal *et al.*, 2004), atingindo o rim em casos raros que à posterior desenvolvem pielonefrites (Dufour, 1974; Castineiras *et al.*, 1987). A estenose dos ureteres e meatos ureterais com calcificação leva a alteração da

motilidade ureterovesical com refluxo vesicoureteral (Dufour 1974; Eisenkraft *et al.*, 1983; Buxey e Satasivam, 2012).

Como consequência da calcificação vesical (trigno) evolui para estenose ureteral (completa ou incompleta), estase renal e como complicação obstrutiva a uretero-hidronefrose (dilatação dos ureteres e pielocalicial) e alongamento do ureter, em vários graus que normalmente é bilateral, podendo levar a insuficiência renal e atingimento de outros órgãos (Patil e Elem, 1988; Poggensee *et al.*, 1999; Friedman *et al.*, 2007; Leutscher *et al.*, 2009; Badmus *et al.*, 2012; Jourdan *et al.*, 2013).

### 1.5.3 Tumor vesical e *S. haematobium*

Nos países Africanos, os tumores da bexiga não só são frequentes os tumores de células escamosas (ou epidermoides), associados a *S. haematobium* como apresentam alta incidência, embora sobre isto exista alguma controvérsia entre os autores. Assim, a análise retrospectiva realizada em vários países de Africa, sugere a existência de uma relação entre a infecção por *S. haematobium* e o desenvolvimento de carcinoma da bexiga (Diaz Hernandez *et al.*, 1984; Thomas *et al.*, 1990; WHO, 1994; Salem e Mahfouz, 2012; Rambau *et al.*, 2013) entre outros. Porém, num estudo em que foram usados modelos *in vitro* para demonstrar as alterações fenotípicas associadas à carcinogénese, em células expostas ao antígeno de *S. haematobium*, mostrou aumento da proliferação celular, diminuição da apoptose, incluindo regulação anti-apoptótica da molécula, com uma diminuição de regulação da proteína supressora de tumor e aumento da migração celular e invasão (Andrade e Santana, 2010; Botelho *et al.*, 2010).

Por outro lado, vários autores (Coelho *et al.*, 1979; Al Adnani e Saleh, 1983; Rambau *et al.*, 2013) referem que as lesões granulomatosas evoluem com frequência para metaplasias, principalmente carcinoma do tipo escamoso. Apesar das evidências demonstradas sobre a interação parasita/carcinoma de tipo células escamosas, no cancro da bexiga, outros fatores como as fentilaminas, tabaco, o uso de tinturas de anilina na indústria têxtil e da borracha, têm sido sugeridos (entre outros) como potenciais causas da patologia. No entanto, vários estudos realizados usando extratos de *S. haematobium* têm demonstrado a sua capacidade de induzir alteração fenotípica no urotélio dos tecidos com proliferação, apoptose, migração, invasão e evolução para tumor (Abdulmir *et al.*, 2009; Botelho *et al.*, 2011).

Como tem sido referido pelos diversos autores, este tipo de cancro, nos países endémicos, é atribuído sobretudo à infeção pelo parasita. Por exemplo, no Zimbabué, foi realizado um estudo retrospectivo o qual concluiu que a alta prevalência de carcinomas de células escamosas (69%), estava associada à infeção por *S. haematobium*. Esses resultados apoiam uma relação causal entre a infeção por *S. haematobium* e carcinoma de células escamosas da bexiga (Thomas *et al.*, 1990). A alta frequência de infeções do parasita na bexiga e a existência de neoplasia vesical do tipo escamoso pode justificar aquela relação (Alvarez Maestro *et al.*, 2010; Botelho *et al.*, 2010; Aly *et al.*, 2012). Por outro lado, a perda de peso, hematúria e necrotúria têm sido os sinais e sintomas atribuídos a esse tipo de tumor (Warren *et al.*, 2002).

#### 1.5.4 Lesões ectópicas

As lesões pélvicas (genitais) causadas por *S. haematobium* no sexo feminino têm sido descritas por vários autores, sendo as mais comuns as cervicites com microgranulomas e ovos de *S. haematobium* no colo uterino e as vaginites (Jourdan *et al.*, 2011b; Kjetland *et al.*, 2012; Jourdan *et al.*, 2013; Figueiredo *et al.*, 2013). Nas lesões observadas por exame ginecológico (colposcopia) observam-se erosões, ulcerações, hipertrofia (Wacker *et al.*, 2013), apresentando estes doentes, frequentemente, queixas como leucorreia, dispareunia e hipogastralgia (Kjetland *et al.*, 2005). A infertilidade feminina tem sido um achado nos estudos epidemiológicos devido às localizações urogenitais (Leutscher *et al.*, 1997; Nayama, *et al.*, 2007).

A schistosomose também facilita a infeção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) devido à fragilidade da mucosa infetada com os ovos do parasita em contato com o vírus durante o contato sexual (Leutscher *et al.*, 2008, 2009), assim como é possível ter *S. haematobium* genital sem envolvimento urinário devido ao padrão e fluxo dos vasos sanguíneos individuais (Gelfland *et al.*, 1970; Kjetland *et al.*, 2005).

No sexo masculino, as formas ectópicas frequentemente descritas são as prostatites, hiperplasia benigna da próstata (HBP), vesiculites as quais estão muitas das vezes associadas a queixas de hemospermia, lombalgia (Patil e Elem, 1988; Leutscher *et al.*, 2009; Khalaf *et al.*, 2012) e, em casos raros, atingem o testículo que leva a infertilidade masculina (Fourcade *et al.*, 1977; Badmus *et al.*, 2012).



Epelboin *et al.*, (2010) observaram em necropsias, miocardiopatias com presença de ovos no miocárdio, enquanto outros autores Armstrong *et al.*, (2013) identificaram no pulmão e na superfície da pele Bettencourt *et al.*, (1979) com granulomas. Outros estudos demonstram que os ovos podem ser levados pela corrente sanguínea até ao cérebro (Cabral e Pittella, 1989; Imai *et al.*, 2011) e à medula (Kim *et al.*, 2010) originando granulomas e tumores com síndromes compressivos causando mielites.

De acordo com Ferreira *et al.*, (2003), as infeções por espécies diferentes podem resultar numa possível hibridação entre espécies, uma vez que os machos são responsáveis por conduzir as fêmeas ao local de oviposição (Meurs *et al.*, 2012). No entanto, o quadro clínico por *S. haematobium* no trato intestinal, segundo a literatura, pode caracterizar-se por manifestações clínicas semelhante às de *S. mansoni* (Rey 2001) devido à passagem dos ovos na parede intestinal, produzindo reações granulomatosas, fibrose e ulcerações, levando à ocorrência de sangue nas fezes, diarreia e outras manifestações. Em alguns casos podem também agravar e potenciar os efeitos da doença, uma vez que vão apresentar as duas manifestações clínicas das duas formas (intestinal e vesical) (Casella *et al.*, 2009).

Há ainda referências a quadros agudos e oclusivos como apendicite aguda que foram um achado nos resultados da anatomia patológica em zonas endémicas onde o parasita prevalece (Elazary *et al.*, 2005; Ahmed *et al.*, 2014). As formas intestinais por *S. haematobium* são raras, mas quando atingem o intestino com a formação de granulomas, o organismo reage com processo inflamatório que pode evoluir para quadro agudo como apendicite aguda bilharziosa (Garcia-Oria *et al.*, 1999; Elazary *et al.*, 2005; Badmos *et al.*, 2006) e outras formas agudas (Ladu, 2014; Ahmed *et al.*, 2014).

Num estudo em que foram realizados exames de gastroscopia em dois grupos de doentes, com e sem schistosomose, ambos com queixas gástricas, foi verificado que a incidência e a extensão das lesões da mucosa gástrica eram mais complicadas em doentes com schistosomose do que nos doentes que não tinham esta infeção (Xiong *et al.*, 2011).

De acordo com Kjetland *et al.*, (2012) a invasão parasitária de *S. haematobium* pode ter envolvimento genital, urinário e intestinal, simultaneamente.

### 1.5.5 Outros agentes patogénicos e *S. haematobium*.

A infeção microbiana no trato urinário não é específica em relação à infeção por *S. haematobium* porque envolve microrganismos diferentes tais como as bactérias gram negativo e gram positivo, incluindo *Proteus sp*, *Klebsiella sp*, *Escherichia coli*, e *Staphylococcus aureus*, entre outras (Rushton e Majd, 1995).

Estudos realizados numa escola em Ibadan na Nigéria, sobre a prevalência da schistosomose urinária e agentes microrganismos do trato urinário concluíram que 57,5% dos alunos apresentavam ovos de *S. haematobium* e também tinham piúria. Este achado é sugestivo de lesão inflamatória da bexiga causada por *S. haematobium* devido à deposição dos ovos no tecido que dá origem à inflamação e formação de granulomas, levando a infeção do trato urinário. Porém, há autores que atribuíam a piúria à infeção bacteriana (Adeyeba e Ojeaga, 2002). A schistosomose e a infeção por geohelminthas estão associadas à morbilidade e à mortalidade materna e infantil na África Subsariana. Além disso, existem evidências de carências de ferro que levam a anemia e desnutrição, o que reforça a implementação de intervenções integradas para o controlo dessas doenças e respetiva morbilidade (Traore *et al.*, 1998; Sousa-Figueiredo *et al.*, 2012; Okoli *et al.*, 2006).

Estudos epidemiológicos têm mostrado que a schistosomose genital aumenta o risco de infeção por HIV em África, nomeadamente os de Ndeffo Mbah *et al.*, (2013b), em que foi analisada a correlação entre a prevalência de *S. haematobium* e HIV em 43 países da África Subsariana, tendo-se encontrado uma prevalência média de *S. haematobium* de 22,4% e de 6,21% para o HIV. Na opinião de outros autores, o relativo aumento na prevalência de HIV em indivíduos com *S. haematobium* não estava associada a outras infeções de schistosomose por *S. mansoni*, hepatite C, malária e sífilis. Entretanto para Feldmeier *et al.*, (1995), Jourdan *et al.*, (2011a), Ndeffo Mbah *et al.*, (2013a), o controlo de *S. haematobium* poderá contribuir de forma eficaz para reduzir a transmissão do HIV na região Subsariana.

*Schistosoma haematobium* é a causa principal das lesões schistosómicas na bexiga. Os casos de lesões vesicais por *S. mansoni* estão geralmente associados a infeções mistas (Chatelain 1977) ou individuais (Kjetland *et al.*, 2005). Os ovos de *S. mansoni* com formação granulomatosa são muitas vezes achados histológicos de biópsia da glândula

prostática (Lambertucci *et al.*, 2006; Ehsani e Osunkoya, 2013), do cérebro (Imai *et al.*, 2011) e da coluna vertebral (Lambertucci *et al.*, 2009).

### 1.6 Diagnóstico

As queixas dos doentes como a disúria, hematúria, a lombalgia e outros sinais e sintomas referidos em indivíduos de zonas endémicas ou delas provenientes permitem chegar a um diagnóstico que vai facilitar a investigação através de meios de diagnóstico.

Estes podem ser diretos, que permitem observar o agente etiológico e são usados em estudos epidemiológicos, designadamente método de filtração (OMS, 1991; Mazigo *et al.*, 2012) e métodos indiretos (Pillay *et al.*, 2014). O método de filtração, permite classificar as infeções: leves, em doentes que eliminam diariamente 1 a 10 ovos/10ml de urina; moderadas, nos que eliminam de 1 a 49 ovos/10ml e intensas, quando há eliminação de mais de 50 ovos/10ml de urina. Além dos métodos de filtração de urina para observação de ovos de *S. haematobium*, também são usadas as fitas reativas para observação de microhematúria e albuminúria, o que tem sido aplicado em diversos estudos epidemiológicos, sendo considerados indicadores específicos da infeção sobretudo em crianças (WHO 1998; Sousa-Figueiredo *et al.*, 2012). O exame de espermograma não é frequente para a deteção de ovos, mas em caso de suspeita e hemospermia também pode revelar presença de ovos de *S. haematobium* (Chatelain 1977; Leutscher *et al.*, 2008).

Nos exames indiretos (serologia) são aplicados diversos métodos, nomeadamente o teste Enzyme- Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), a Imunoflorêscencia (IF) e Cercarien Hullen Reaktion (CHR), métodos bastantes específicos no diagnóstico desta parasitose (Rey, 2001). A deteção de anticorpos pode ser útil tanto na gestão clínica como em levantamentos epidemiológicos. Efetivamente a deteção de anticorpos pode ser útil para indicar infeção schistosómica em doentes que tenham viajado para áreas endémicas da schistosomose e em quem não são encontrados ovos nas amostras de fezes ou de urina.

Mais recentemente, têm vindo a ser aplicadas também técnicas de biologia molecular (por exemplo, as de PCR - Polymerase Chain Reaction), sobretudo em áreas de baixa endemicidade e/ou na sequência de programas de controlo pós-terapêutico, devido à menor sensibilidade dos métodos diretos perante baixa carga parasitária (Shiff *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2010; Pillay *et al.*, 2014).

A avaliação da extensão e gravidade das lesões requerem outros meios complementares. O exame ecográfico revela lesões da parede vesical com hiperecogenicidade, espessamento e irregularidade, presença de pseudopólipos e, a nível renal, pode observar-se dilatação pielocalicial e ureteral secundária a lesões vesicais causadas por *S. haematobium* (Hatz *et al.*, 1992; Richter *et al.*, 1996; Abdel-Wahab *et al.*, 2000; Keita *et al.*, 2001; van Der Werf *et al.*, 2004; Keita *et al.*, 2005). A cistoscopia permite observar lesões do tipo inflamatório com hiperémia e presença de granulomas, ulcerações, pólipos e tumorações na submucosa da parede vesical, as quais constituem as principais alterações cistoscópicas (Diaz Hernandez, 1984; Silva *et al.*, 2006), enquanto a biópsia permite fazer o diagnóstico histológico das lesões (Thomas *et al.*, 1990; Voietta *et al.*, 2010).

Os exames de radiografia simples e com contraste do trato urinário, são um meio de diagnóstico importante na avaliação de sequelas e complicações, pode revelar calcificação linear da bexiga e ureteres e mostrar eventual uretero-hidronefrose (Buxey e Satsivam, 2012). Na opinião dos autores, a apresentação clássica de uma bexiga calcificada assemelha-se a uma cabeça fetal na pélvis, sendo o sinal patognomónico de schistosomose urinária crónica “bexiga de porcelana” (Patel *et al.*, 2012).

A colposcopia permite identificar no exame direto o parasita e lesões quando se realiza a citologia com esfregaço, do colo uterino. A biópsia cutânea do reto pode facilitar a observação dos fragmentos ao diluí-los com água e examiná-los microscopicamente com uma preparação de compressão (Silva *et al.*, 2008).

Com aparecimento de tumores em estádios avançados e de difícil conduta de tratamento, os métodos com biomarcadores moleculares permitem diagnosticar precocemente as doenças tumorais, promovendo uma conduta terapêutica precoce e consequente melhor prognóstico e qualidade de vida do doente. Estes métodos são constituídos por macromoléculas presentes no tumor, no sangue, ou em outro fluido biológico do organismo que, em presença de alterações nas suas concentrações estão associadas com a génese e o crescimento de células neoplásicas (Almeida *et al.*, 2007; Konety *et al.*, 2000).

Os exames citológicos da urina são um critério seguro para o diagnóstico precoce de tumor vesical (Ruiz Perez *et al.*, 1990; Silva *et al.*, 2006, 2008) e os ecográficos são de elevada importância na identificação e caracterização das lesões do foro urológico

(Cesmeli *et al.*, 1997; Littmann e Seitz, 1998; WHO, 2002 a; Shiff *et al.*, 2006; Strahan *et al.*, 2013).

### 1.7 Tratamento

Segundo a WHO (2014) a quimioterapia promove a interrupção da deposição dos ovos e a eliminação do agente patogénico fazendo com que haja regressão dos danos nas primeiras fases. O Praziquantel (PZQ) continua a ser o fármaco de escolha, com eficácia em dose única e contra todas as espécies de *Schistosoma*, com uma taxa de cura inicial de 75% a 100% e uma redução da carga parasitária em 95% (WHO, 2014). Os efeitos colaterais do fármaco são suportáveis apesar de poderem causar transtornos gastrointestinais (vómitos, anorexia, diarreia, epigastralgia e dor abdominal).

Praziquantel (Biltricide®) é uma pirazino-isoquinolina com comprimidos em diferentes apresentações (150 mg, 500mg e 600mg) e é utilizado, na dose de 40 mg/kg tanto em tratamento individual, como em estudos epidemiológicos (Pehrson *et al.*, 1983; WHO, 1990; Abo-Madyan *et al.*, 2004; Abdulrab *et al.*, 2013). O fármaco vai provocar rotura do tegumento do verme, achatamento dos espinhos e o desaparecimento nalgumas regiões do parasita assim como rutura e vacuolização ou outras alterações nomeadamente, maturação precoce dos vermes e deformação aos que sobrevivem ao tratamento (Conceição e Silva, 2005). Para o tratamento das formas raras, com formação de granulomas e atingimento do sistema nervoso (cérebro e medula), havendo o diagnóstico confirmado da presença do parasita, está indicado o aumento da dose para 60 mg/kg, com associação de Prednisolona (1,5 mg/kg/dia) até 3 doses diárias durante 21 dias (Conceição e Silva, 2005). Outros fármacos como Metrifonato, Niridazol e Oxaminiquina têm limitações específicas e níveis de eficácia inferiores ao PZQ, motivo pelo qual não são usados desde 1998 nalgumas regiões de África.

Em Angola como em diversas áreas endémicas tem sido usado o tratamento combinado com Praziquantel 40 mg/kg, Mebendazol 100 mg ou Albendazol 400 mg, para as coinfeção com helmintas intestinais (MINSa, 2005). Num estudo piloto realizado em Zanzibar, em áreas co endémicas de schistosomose, filariose linfática, helmintas intestinais e oncocercose, com a finalidade de diminuir as parasitoses na população, foi feita a administração tripla com Ivermectina (200 µg/kg), Albendazol (400 mg) ou Mebendazol e Praziquantel (40 mg/kg) (Mohammed *et al.*, 2008).

Os derivados de Artemisinina são igualmente ativos contra todas as espécies de *Schistosoma* que infetam os humanos, apresentando uma atividade complementar à do Praziquantel (Di Marco *et al.*, 2001). No entanto, a sua utilização na schistosomose é questionável devido a uso específico da Artemisinina no tratamento da malária.

O tratamento cirúrgico é indicado nas complicações em caso, de estenose do meato ureteral realiza-se a meatotomia e colocação de cateter duplo J, na estenose do ureter realiza-se a ureteroplastia e ureteroneocistostomia citada em estudos (Weinberg, 1970). Nos casos de tumores usam-se procedimentos endoscópicos endovesicais para ressecção de pólipos, tumores sem atingimento muscular (Stenzi *et al.*, 2011) e em estádios mais avançados, o tratamento é, como em qualquer tumor, a cistectomia parcial ou total com ureteroileostomia (Weinberg, 1970), a radioterapia e a quimioterapia ou combinado (cirúrgico, quimioterapia e ou radioterapia).

Normalmente as formas ectópicas são um achado após a conduta de tratamento cirúrgico de urgência ou eletiva e a biópsia cujo resultado histológico identifica ovos do parasita e para o qual é indicada a instituição do fármaco antiparasitário para eliminação dos vermes.

### 1.8 Medidas de prevenção e de controlo

Várias estratégias foram implementadas, em alguns países Africanos, para o controlo da morbilidade da schistosomose no contexto de saúde pública (Chitsulo *et al.*, 2000; Engels *et al.*, 2002), sendo feitos tratamentos em massa com administração de PZQ (40 mg/ kg), embora haja opiniões contraditórias sobre este procedimento, tendo em conta o eventual aparecimento de resistência ao fármaco (Rey, 2001).

A vigilância epidemiológica com uso de técnicas para análises de urina, vai permitir manter o controlo da morbilidade e o tratamento de casos infetados ou reinfectados. Esta vigilância está implementada na maior parte dos países endémicos de África, com o objetivo de suspender a transmissão do parasita (WHO, 2002 a; Bergquist *et al.*, 2002; Yajima *et al.*, 2012).

Estima-se que cerca de 728 milhões de pessoas tenham beneficiado de quimioterapia preventiva em 2011 (<http://www.who.int/wer/2013>) e 249 milhões em 2012 (WHO, 2014).

Contudo, cerca de 93% das pessoas em 52 países de África necessitam de quimioprevenção, para a redução e prevenção da morbilidade em, áreas de baixo e elevado risco de infeção (WHO, 2014).

A capacitação de técnicos de diagnóstico e de tratamento, a melhoria da supervisão, o fornecimento de água potável e saneamento básico às populações, bem como a construção de locais onde a população possa efetuar as suas atividades domésticas (lavar roupa, louça, etc) mantendo os seus usos e costumes, são igualmente medidas estratégicas importantes.

As medidas de educação para a saúde, recomendadas pela Organização Mundial da Saúde e implementados nos países endémicos, têm contribuído para o melhor conhecimento da doença e o seu controlo (WHO, 2012; Musuva *et al.*, 2014; Campbell *et al.*, 2014).

O controlo malacológico deve ser feito através da destruição de habitats de moluscos, drenagens, remoção da vegetação e desobstrução de canais ou aumento da velocidade dos cursos de água, podendo igualmente recorrer-se aos moluscicidas, de preferência orgânicos e facilmente degradáveis, evitando os impactes sobre a flora e fauna aquáticas provocadas pelos de síntese química.

Quanto a vacinas, os ensaios desenvolvidos até ao presente têm sido um fracasso, uma vez que, os estudos experimentais nos modelos animais não têm induzido a proteção necessária, apesar do avanço no conhecimento da biologia e imunologia. Para alguns autores a quimioterapia convencional com Praziquantel e investimento em novos schistosomicidas serão os processos mais acessíveis para controlar a doença (Hagan e Sharaf, 2003) enquanto para outros (Siddiqui *et al.*, 2011; El Ridi *et al.*, 2014) a imunização constituiria uma forma protetora e especialmente eficaz ao conferir imunidade a longo prazo contra a infeção, através das respostas imunológicas induzidas levando à diminuição das cargas parasitárias e da produção de ovos, contribuindo para a redução da morbilidade.

## 1.9 Objetivos

A schistosomose causada por *S. haematobium* tem fortes repercussões negativas quer a nível da saúde individual e pública, quer a nível socioeconómico e da qualidade de vida das populações. Considerando que esta parasitose é endémica em Angola e um dos principais motivos de consulta no Serviço de Urologia do Hospital Américo Boavida, em Luanda o seu estudo bem como seu controlo tornam-se imperiosos no país.

Nesse contexto, o presente projeto de tese, que pretende contribuir para o estudo daquela parasitose em Angola, tem por objetivos:

### Objetivo geral

Identificar as lesões clinico-patológicas causadas por *Schistosoma haematobium*.

### Objetivos específicos

- 1- Avaliar a prevalência, os fatores de risco e comportamentais, associados à infeção por *S. haematobium* nos doentes observados na consulta externa de Urologia do Hospital Américo Boavida, de Luanda.
- 2- Identificar as complicações causadas pelos ovos de *S. haematobium* no trato urinário.
- 3- Avaliar a sensibilidade do biomarcador tumoral na urina dos doentes.
- 4- Analisar a existência de eventual diversidade genética de *S. haematobium* entre as populações parasitárias.



## **MATERIAL E MÉTODOS**

## **2. Material e Métodos**

### **2.1 Procedimentos éticos**

Este projeto foi aprovado pelo comité de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade Agostinho Neto e da direção do Hospital Américo Boavida em Luanda e pelo Conselho Científico do Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa. Todos os doentes adultos incluídos no estudo deram o seu consentimento escrito (após explicação detalhada dos procedimentos) e, para os menores de 18 anos, foi obtida a autorização dos respetivos encarregados de educação (Anexo II).

#### **2.1.1 Local e metodologia de estudo**

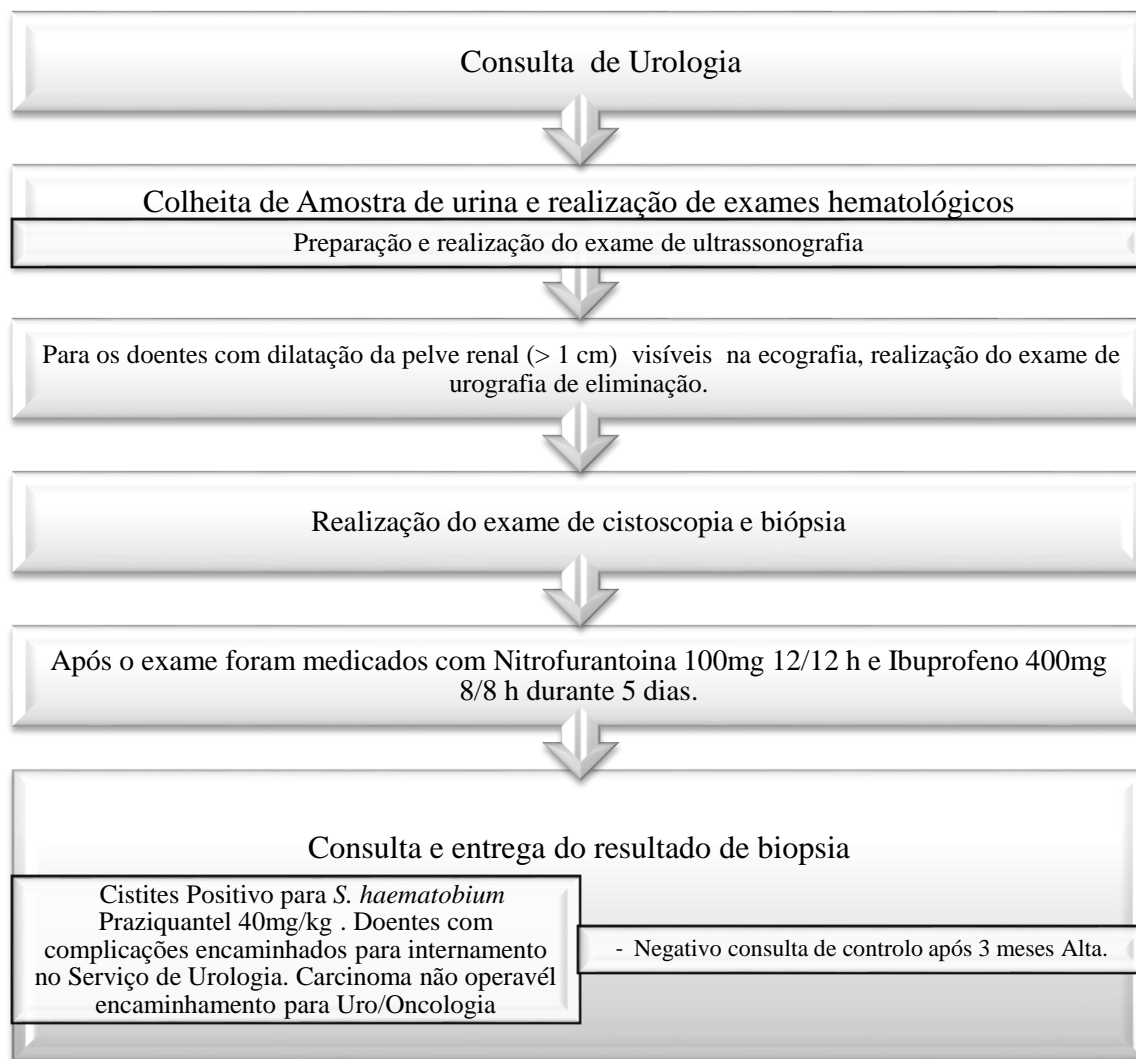
O estudo realizou-se no Hospital Américo Boavida (HAB-Hospital Universitário), localizado em Luanda, Angola (Figura 4). Procedeu-se a um estudo observacional longitudinal com a amostra por conveniência, constituída pelos doentes que acorreram ao Serviço de Urologia, com queixas urinárias, provenientes das diversas províncias de Angola.



**Figura 4:** Hospital Américo Boavida.

Na anamnese, incluiu-se um questionário individual sobre informações complementares visando o conhecimento de aspetos sociodemográficos, clínico-patológicos (antecedentes de uropatologia) e hábitos comportamentais dos doentes. Os procedimentos foram realizados de acordo com a metodologia em vigor no HAB (Figura 5).

A realização completa dos exames foi efetuada apenas aos doentes que correspondiam aos critérios de inclusão definidos e em dias determinados, de acordo com as disponibilidades dos doentes.



**Figura 5:** Metodologia de realização dos exames complementares.

### 2.1.2 Critérios de inclusão e exclusão

**a) Critérios de inclusão dos doentes:**

- Sintomas e sinais clínicos de schistosomose urinária nomeadamente hematúria, disúria, polaquiria e cistalgia.

- Exame parasitológico de urina (OMS, 1983), ecografia renal e vesical (Shiff *et al.*, 2006).
- Análise citológica e o biomarcador teste NMP22® na urina para deteção de neoplasia vesical.
- Realização de exame imagiológico (urografia de eliminação) nos indivíduos que na ecografia renal apresentavam dilatação pielocalicial superior a 1 cm de diâmetro e com níveis normais de ureia de 40 mg/dl e creatinina 1,40 mg/dl (um dos critérios para a realização deste exame, segundo Montalvo Alvarez e Lazo Lopetegui., (1980).
- Antecedentes de hematúria e infeção urinária de repetição, com indicação para a realização de uretrocistoscopia e biópsia, (Chatelain, 1977; Hernández Perez *et al.*, 1984; Khalaf *et al.*, 2012)
- Considerou-se como diagnóstico positivo de schistosomose urogenital, os doentes com infeção comprovada parasitológica e/ou histologicamente.

#### **b) Critérios de exclusão**

- Gestantes com menos de 12 semanas.
- Utentes com idade inferior aos 14 anos.
- Doentes que não reuniam pelo menos três exames (por não terem comparecido para realização dos exames)
- Doentes que se recusaram a efetuar certos exames, nomeadamente a uretrocistoscopia e doentes com patologia em estágio avançado, como estenoses da uretra ou com outras patologias do foro urológico.

## **2.2 Procedimentos dos exames complementares**

### **2.2.1 Colheita e processamento de urina**

Para a colheita de urina, os doentes foram previamente orientados durante a consulta, para os procedimentos necessários, nomeadamente, a não realização de exames radiológicos com uso de contraste nos 7 dias que antecedem o exame, bem como algumas recomendações específicas a evitar no caso de doentes do sexo feminino (exame ginecológico 48 horas antes, período menstrual e uso de cremes vaginais). Foram feitas recomendações adicionais para o dia da colheita da urina, tais como, ingestão de água,

exercício físico para distensão da musculatura pélvica (caminhar cerca de 10 minutos) e permanecer sem urinar nas duas horas antes do exame.

Foram entregues aos doentes frascos de plástico de 10 ml devidamente identificados (nome, idade, sexo, data); a colheita da urina foi efetuada no período da manhã (entre as 10.00 e as 12:00 horas), sendo imediatamente subdividida em duas amostras de 5 ml cada para a posterior realização dos exames parasitológicos, citológicos e teste NMP22BC<sup>®</sup>.

### **2.2.2 Diagnóstico parasitológico de *S. haematobium***

A pesquisa e quantificação de ovos de *S. haematobium* foram efetuadas pelo método de filtração (OMS, 1983; WHO 1998). Resumidamente, a urina (5 ml) foi filtrada usando filtros Millipore ( $\varnothing = 12\mu\text{m}$ , Swinnex<sup>®</sup>) colocados num suporte com adaptador de plástico e observados ao microscópio ótico (Olympus). A intensidade da infeção foi expressa em número de ovos de *S. haematobium* por 10 ml de urina, sendo a carga parasitária classificada em moderada (1-49 ovos/10 ml) e severa ( $\geq 50$  ovos/10 ml), segundo o estabelecido pela OMS (1983) (Anexo II).

### **2.2.3 Exame citológico da urina**

O exame citológico da urina para pesquisa de células neoplásicas (Koss *et al.*, 1985) foi efetuado no Laboratório de Anatomia Patológica do HAB, imediatamente após a colheita e separação da urina.

### **2.2.4 Teste imunocromatográfico NMP22BC<sup>®</sup>**

O teste NMP22BC<sup>®</sup>, Proteína Nuclear da Matriz BladderChek<sup>®</sup>, é um método qualitativo, imunocromatográfico (Figura 6), aplicado na urina para deteção de cancro de bexiga (Kumar *et al.*, 2006), em complemento com outros procedimentos de diagnóstico. Composto por *kit* individual, inclui suporte de plástico contendo uma membrana com partículas de ouro coloidal conjugadas com o anticorpo de revelação (IgG, 0,8 $\mu\text{g}$ /suporte) e um anticorpo monoclonal de captura (3,0  $\mu\text{g}$ /) imobilizados na membrana.

### Execução do teste

O teste foi efetuado de acordo com as indicações do fabricante (Matritech®). As alíquotas de urina foram processadas no período máximo de duas horas antes da elaboração.

Utilizando o conta-gotas fornecido, colocaram-se quatro gotas de urina no local (S) da membrana. A leitura foi feita após 30 minutos. O resultado positivo é indicado pela coloração das bandas do teste em análise (T) e do controlo (C). A ausência de coloração (T) corresponde a resultado negativo. Todos os testes NMP22 Bladder Chek® foram efetuados e interpretados pelo mesmo observador.



**Figura 6:** A) Kits (Teste de NMP22) e B) Frascos de plástico com urina.

## 2.3 Exames complementares de diagnóstico clínico-patológico.

### 2.3.1 Exames imagiológicos

#### a) Ecográficos

Para avaliação das alterações patológicas provocadas por *S. haematobium*, foi utilizado na ecografia o protocolo definido pela OMS (WHO, 2000 a; Richter *et al.*, 2001) consistindo num exame fácil de realizar, não invasivo e que permite identificar alterações patológicas no trato urinário. Após a preparação prévia dos doentes, incluindo ingestão de água uma hora antes para distensão da bexiga até à realização do exame, foi feita abordagem abdominal e pélvica com o uso do ecógrafo (Siemens®250, Tokyo, Japan., 2005) com um transdutor abdominal de 3,5 -5 MHz.

A nível renal determinou-se o tamanho, espessura e ecogenicidade cortical, diferenciação cortico-medular e avaliação do sistema pielocalicial para pesquisa de hidronefrose em caso de dilatação superior a 1cm, consideramos a classificação de acordo o grau de ectasia: Grau I: ligeira dilatação dos cálices, bacinetes e ureteres proximal; Grau II: dilatação com hidronefrose moderada do bacinete e ureter; Grau III: dilatação com hidronefrose dos bacinetes com atrofia do parênquima (apenas 25% da função renal esta conservada) (Richter *et al.*, 2001). Nos casos em que se identificou hidronefrose de grau I, os indivíduos repetiram o exame após a micção e calculou-se o volume residual nos diâmetros longitudinais e transversais. O exame da cavidade vesical incluiu a avaliação do volume vesical residual, espessura da parede bem como a existência de pseudotumores, pseudopolipos e litíase, determinados rotineiramente nos planos longitudinais e transversais. Todos os exames foram feitos pelo mesmo clínico e a codificação exata das características foram feitas de acordo com as recomendações de Richter *et al* (2001).

#### **b) Urografia de eliminação**

A urografia de eliminação foi realizada aos doentes com alterações observadas na ecografia renal, nomeadamente dilatação pielocalicial > 1cm, com o objetivo de observar a fase nefrográfica, a morfologia uretero-pielocalicial, considerando-se como alteração patológica (Warren, 2002) a presença de hidronefrose, o nível de estreitamento dos ureteres, sobretudo ao nível distal e as alterações morfológicas e estruturais da bexiga (retráctil, imagem de subtração da bexiga, calcificação). O exame foi efetuado no serviço de Radiologia do HAB, com apoio dos técnicos e especialistas do Serviço. Sendo um processo em duas etapas, o exame é precedido de RX simples abdomino-pélvico para identificar a presença de rádio-opacidade, calcificação linear da parede vesical “bexiga de porcelana” e existência de cálculos (Montalvo Alvarez & Lazo Lopetegui, 1980).

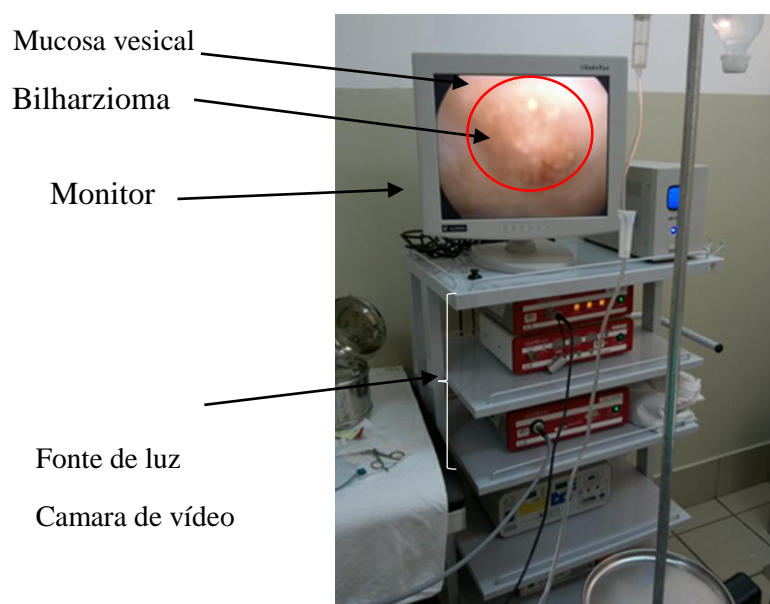
Os procedimentos para o exame incluíram: avaliação prévia dos níveis da função renal (<40 mg/dl ureia e 1,2 mg/dl creatinina); doentes com níveis superiores são submetidos a internamento no serviço de Urologia, estabilizados hemodinamicamente até a sua normalização; a preparação prévia dos doentes com “Klean-prep ou Selg”, diluído em 4 litros de água durante dois dias com manutenção de dieta hídrica.

Para a realização da urografia, foi aplicada ao doente 50 ml de solução Telebrix® 30 MEGLUMINA (ioxitalamato de meglumina,) por via endovenosa (EV) e, em seguida, procedeu-se à recolha de imagens radiográficas nos primeiros 5, 10, 15, 20, 30, 45 minutos, complementada com imagem pós miccional após 2 horas.

### 2.3.2 Exame endoscópico

#### Uretrocistoscopia

A uretrocistoscopia é um exame que possibilita a visibilidade ótica dos segmentos uretrais e da bexiga, permitindo também a realização de biópsia. No HAB é efetuado com cistoscópio rígido “Richard Wolf”, tamanhos 17, 20, 22 (Fr) com lentes 0°, 30°, 70°, 120° e monitor (torre) (Figura 7), câmara de vídeo, com fonte de luz externa, lâmpadas de xénon e halógenas conduzidas por fibras óticas flexíveis.



**Figura 7:** Aparelho usado para visualizar imagens durante a cistoscopia. “Torre com equipamento” Imagem no monitor (mucosa vesical com bilharzioma na parede superior) (setas identificam o equipamento).

#### a) Procedimento do exame de uretrocistoscopia

De acordo com o protocolo para a realização do exame, o doente é colocado em posição ginecológica, seguido de medidas de assepsia e colocação de gel anestésico na



uretra (5ml de Lidogel 2%). Para distensão da uretra e bexiga e melhor visão ótica, 300 ml de soro fisiológico (Na Cl 0,9%) são instilados em simultâneo com a introdução do cistoscópio. Das áreas com lesões suspeitas efetuaram-se biópsias, retirando quatro fragmentos de cada lado (laterais, posterior, anterior) com agulha, colocados em frascos com 1ml de formol a 10% para exame anatomopatológico.

A classificação dos estádios das lesões de schistosomose vesical, usada no nosso serviço, é a preconizada por Chatelain (1977).

- Estádio 0- Corresponde a uma hiperplasia difusa da mucosa vesical, não específica e parecendo uma cistite aguda simples traduzindo hiperémia.
- Estádio I- Lesões primárias sob a forma de microgranulomas bilharzianos, ovos viáveis atravessando a mucosa vesical com aspeto de “grãos de areia” ou “grãos de sêmola” e traduzindo uma fase ativa da doença.
- Estádio II- Presença tubérculos, pseudogranulomas (“tumor framboesa”) ou bilharziomas, úlceras acompanhadas de reação inflamatória, hiperplasia da mucosa (tapetes arenosos ou grãos de areia).
- Estádio III- Tubérculos parcialmente calcificadas na mucosa, por vezes apresentam um aspeto de pontos negros ou de “grãos de areia no fundo do mar” e frequentemente acompanhadas de rigidez ou estreitamento dos orifícios ureterais.
- Estádio IV- Calcificações vesicais sob a forma de manchas esbranquiçadas, acastanhadas ou acinzentadas dando a impressão de “couro rígido”.

Quanto à classificação clínica da schistosomose urogenital correspondente aos estádios das lesões (Chatelain, 1977), considera-se a fase aguda correspondente às lesões primárias de estágio 0-1 e lesões secundárias II-III, sendo a fase crónica da doença associada às lesões terciárias do estágio IV.

As lesões inespecíficas correspondem a sufusões hemorrágicas, equimoses, grãos negros, degenerescência da mucosa vesical com invaginação profunda de partes do epitélio formando os designados “ninhos de Von-Brunn” (papiloma invertido), alteração normalmente associada a lesões pré-neoplásicas (Chatelain, 1977).

### **2.3.3 Exame histológico**

Das amostras de biópsia, foram preparados blocos em parafina e feitos os cortes histológicos e colocados em lâminas para observação ao microscópio ótico. Na

categorização foi utilizado o sistema de classificação recomendado pela OMS (1973-2002) citada em Eble *et al.*, (2004), consoante o grau de invasão e diferenciação do tumor. Assim, os tumores foram classificados em não invasor, de baixo grau (graus I e II - Ta, T1 e Cis) e invasor, de alto grau (grau III - T2, T3 e T4). Quanto ao grau de metastização do tumor, utilizou-se a classificação TMN (T=Tumor, N=Gânglio, M=Metástase) usada no serviço de Anatomopatologia (Eble *et al.*, 2004) (Anexo III).

### **2.3.4 Tomografia Axial Computorizada - TAC**

Os doentes que apresentavam tumor vesical foram submetidos a TAC para avaliar o seu estadiamento e proceder ao tratamento cirúrgico e oncológico.

## **2.4 Conduta com o doente**

Após o exame de cistoscopia os doentes serão medicados com um analgésico e anti-inflamatório (Ibuprofen 400 mg de 8/8 horas) e antisséptico urinário (Nitrofurantoina 100mg de 12/12 h até 5 dias), conforme protocolo Serviço de Urologia. Os doentes com resultado positivo para *S. haematobium* por exame direto e/ou com cistites crónicas com ovos em análise histológica, serão medicados com Praziquantel, 40mg/kg em dose única (WHO 1990) e reavaliados três meses depois. Os doentes que apresentarem complicações mais graves, como estenose dos meatos ureterais e hidronefrose, serão submetidos ao tratamento cirúrgico. Nos casos de carcinomas de grau I e II, os doentes poderão ser submetidos a cistectomia parcial (se necessário) com seguimento posterior em Oncologia. O controlo pós-cirúrgico será efetuado trimestralmente até à alta da consulta. Os doentes com tumores em estágio avançado serão encaminhados de imediato para o Hospital de Oncologia de Luanda.

## **2.5 Caracterização genética de amostras de *S. haematobium***

### **2.5.1 Extração ADN genómico**

Foram selecionadas as 37 amostras de urina positivas dos doentes das províncias do Bengo, Luanda e Malange. Os ovos foram concentrados pela técnica de centrifugação (1500g, 5 minutos), seguida de lavagem em solução salina várias vezes até o sobrenadante ficar límpido.

Após este processo foi extraído o ADN, de acordo com o protocolo descrito por Sothard (1996), com ligeiras modificações. Resumidamente, após a sedimentação, os ovos de *S. haematobium* foram colocados em diferentes tubos de 1,5 ml com 650 µl de tampão CTAB (2M tris acetato 0,05 EDTA, pH=8,3) ao qual se adicionaram 10 µl de Proteinase K e procedeu-se à maceração dos ovos. Colocaram-se os tubos em estufa durante 1,5 horas a 65°C. No final desse tempo, adicionaram-se 650 µl de clorofórmio- I álcool isoamílico (24:1), agitou-se por inversão durante dois minutos e centrifugou-se a (23000g) por alguns segundos.

O sobrenadante foi transferido para um novo tubo, tendo-se adicionado 750 µl de etanol absoluto gelado para a precipitação do ADN e em seguida centrifugou-se durante 20 minutos a 23000 g. O sobrenadante foi rejeitado e o *pellet* lavado com 500 µl de etanol a 70% e centrifugado de novo nas mesmas condições. Após rejeição do sobrenadante, o *pellet* obtido foi hidratado em 50 µl de tampão TE (10mM Tris, 1 mM EDTA pH=8). A quantificação do ADN foi determinada recorrendo ao espectrofotómetro NanoDrop™ 1000 (v3.7.1) e posteriormente guardado a -20°C até ser utilizado.

### 2.5.2 Amplificação de RAPD-PCR

Foram selecionados quatro *primers* aleatórios para a amplificação do ADN por meio da técnica de RAPD-PCR, descritos por Barral *et al*, (1993) (Tabela 3).

**Tabela 3:** *Primers* utilizados na amplificação de RAPD-PCR e respetivas sequências de nucleótidos.

<i>Primers</i> (Barral, <i>et al</i> , 1993)	Sequência 5' → 3'
<i>Primer 1</i> (A02)	TGC CGA GCT G
<i>Primer 2</i> (A13)	CAG CAC CCA C
<i>Primer 3</i> (A12)	TCG GCG ATA G
<i>Primer 4</i> (Y20)	AGC CGT GGA A

A mistura de reação foi realizada para um volume final de 25 µl, contendo uma concentração final de 3 µl (1x *Green GoTaq® Flexi Buffer*, Promega), 2 µl (2.5mM de MgCl<sub>2</sub>, Promega), 2 µl (0.2mM de cada dNTP, Promega), 1,5 µl (0.15 mM dos *primers*),

0,5 µl (1U de *GoTaq*<sup>®</sup> DNA Polymerase, Promega) e cerca de 2 µl de ADN de cada amostra a testar, sendo o volume final completado com água ultra pura.

A amplificação do ADN pela técnica e RAPD-PCR foi realizada num termociclador (AVISO<sup>®</sup>, GmBH Mechatronic Systems), com as seguintes condições: período de desnaturação inicial de 5 minutos a 92°C, seguindo-se 35 ciclos, cada com 1 minuto de desnaturação a 92°C, 4 minutos de *annealing* a 34°C e 2 minutos de extensão a 72°C. Terminados os 35 ciclos foi realizada uma extensão final de 10 minutos a 72°C. Após amplificação os fragmentos de ADN foram submetidos a electroforese em gel de agarose a 1,5% em tampão TAE (Tris-Acetato 40 mM EDTA 1mM, pH 8,3) onde foi incorporado Brometo de Etídio (0,5 µg/ml). Juntamente com os produtos amplificados utilizou-se um marcador de massa molecular “HypperLadder II” de 2000 pares de bases (bp). A migração ocorreu a 100V durante 2,5 horas e os fragmentos de ADN foram visualizados num transluminador (AlphaImager HP, AlphInnotec).

### 2.5.3 Análise dos perfis electroforéticos

Na análise dos perfis eletroforéticos amplificados obtidos foi construída uma matriz de dados binários para os fragmentos polimórficos onde foi atribuído o valor (1) para a presença e (0) para a ausência de bandas. As bandas claramente visíveis foram consideradas enquanto as de mais difícil visualização foram excluídas da análise. A matriz binária de presença/ausência de bandas foi também utilizada para o cálculo do Índice de Shannon (*Ho*) e a diversidade genética (*He*) (Lewontin, 1972), valores que permitem avaliar o grau de diversidade intra- e inter- populações parasitárias, cujo índice varia de zero (0) a um (1), considerando-se que quanto mais próximo de zero, mais baixa é a diversidade. Foi utilizado o programa POPGENE 1,31, (Yeh *et al*, 1999) para aferir os parâmetros acima referidos.

### 2.6 Análise estatística

Os dados foram introduzidos numa base de dados Excel e para a análise estatística utilizou-se o programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versão 21.0 para Windows<sup>®</sup> (Maroco, 2003). Foram aplicados os testes de Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson e de Fisher para avaliar as frequências e as diferenças de parasitismo e patologia entre os grupos. Na análise das variáveis quantitativas, entre os diferentes grupos,

utilizaram-se testes não paramétricos (Mann-Whitney-Wilcoxon, e Kruskal-Wallis) em alternativa ao teste T-Student. A análise da associação entre os diversos parâmetros das variáveis quantitativas foi efetuada pelo teste de correlação de Spearman  $\rho$  e o método de Epi Tools para avaliar o Intervalo de Confiança a 95% (IC a 95%) de amostras pequenas ou em grupos. O nível de significância foi de 5%.

## **RESULTADOS**

### 3.1 Resultados

Os resultados apresentados estão subdivididos de acordo com os exames complementares realizados durante o estudo. Descrevemos o perfil epidemiológico e demográfico dos doentes quanto à infeção por *S. haematobium* e constituímos quatro diferentes grupos provenientes de várias províncias de Angola, com base na sua frequência. Apresentamos os resultados referentes à análise dos exames complementares clinico-patológicos demonstrando as lesões identificadas associadas ao parasita bem como a avaliação das técnicas de citologia e teste imunocromatográfico NMP22® aplicadas na urina para a deteção precoce de tumor vesical, uma das complicações encontrada no estudo. Concluimos com uma análise preliminar a nível molecular, de isolados de *S. haematobium* obtidos dos doentes das áreas geográficas dominantes da população examinada.

### 3.2 Amostra e distribuição da população estudada

#### 3.2.1 Perfil sociodemográfico

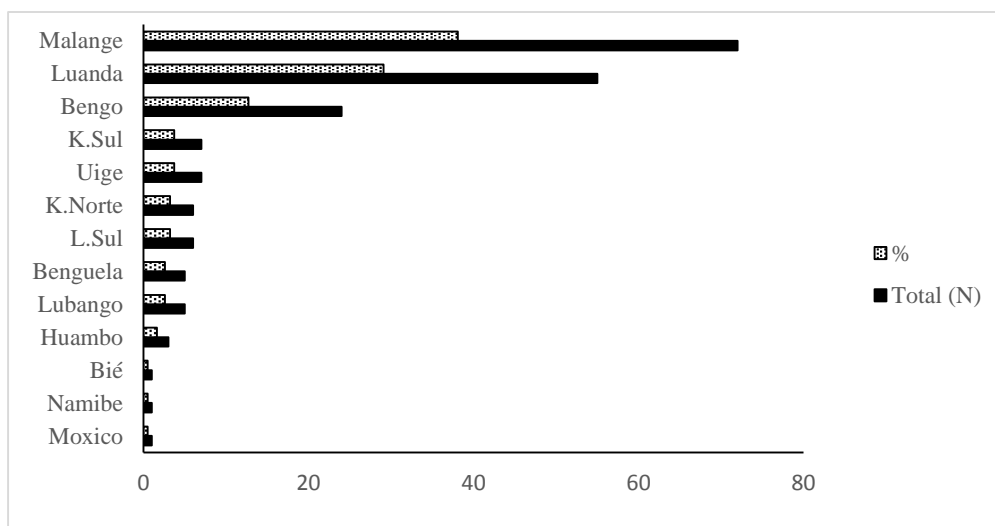
Durante o período de realização do estudo (2011-2013), 1671 utentes recorreram à consulta de Urologia do Hospital Américo Boavida dos quais 189 (10,7%) integravam os critérios de inclusão pré definidos. Do grupo total de doentes avaliados 97 (51,3%) eram mulheres e 92 (48,7%) homens, com idades compreendidas entre os 14 e 77 anos (média 37,9 anos), originários de 13 das 18 províncias do país (Tabela 4). A maioria dos doentes era proveniente de Malange (38,1%), seguida de Luanda (29,1%) e Bengo (12,7%), sendo os restantes (20,1%) das diversas províncias (Figura 8).

**Tabela 4:** Perfil sociodemográfico dos doentes analisados.

	Malange	Luanda	Bengo	Outras	Totais	<i>P</i>
<b>Caraterísticas</b>	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
<b>Género</b>						0,377**
Masc	36 (50)	30 (54,5)	8 (33,3)	18 (47,4)	92 (48,7)	
Fem	36 (50)	25 (45,5)	16 (66,7)	20 (52,6)	97 (51,3)	
<b>Idade (anos)</b>						0,087**
<18	5 (6,9)	8 (14,5)	0 (0,0)	1 (2,6)	14 (7,4)	
18-28	14 (19,4)	19 (34,5)	8 (33,3)	12 (31,6)	53 (28)	
29-39	19 (26,4)	10 (18,2)	4 (16,7)	5 (13,2)	38 (20,1)	
40-50	17 (23,6)	6 (10,9)	5 (20,8)	13 (34,2)	41 (21,7)	
>50	17 (23,6)	12 (21,8)	7 (29,2)	7 (18,4)	43 (22,8)	
<b>Residência</b>						0,332**
Rural	57 (79,2)	41 (74,5)	21 (87,5)	26 (68,4)	145 (76,7)	
Urbana	15 (20,8)	14 (25,5)	3 (12,5)	12 (31,6)	44 (23,3)	
<b>Profissão</b>						0,026*
Agricultor	17 (23,69)	11 (20)	11 (45,8)	12 (31,6)	51 (27)	
Doméstica	17 (23,6)	13 (23,6)	5 (20,8)	10 (26,3)	45 (23,8)	
F. público	15 (20,8)	12 (21,8)	3 (12,5)	9 (23,7)	39 (20,6)	
Estudante	7 (9,7)	15 (27,3)	4 (16,7)	6 (15,8)	32 (16,9)	
Pescador	16 (22,2)	4 (7,3)	1 (4,2)	1 (2,6)	22 (11,6)	

N=número; Masc=Masculino; Fem =Feminino; Outras=Outras províncias; F. público=Funcionário público; %=percentagem; \*Diferenças significativa.\*\*=Sem Diferenças

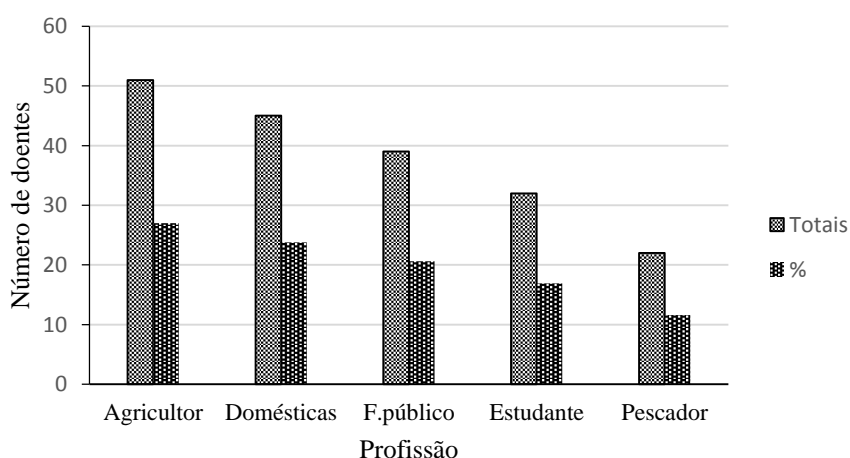




**Figura 8:** Distribuição dos doentes segundo a sua residência.

N=Número; % Percentagem.

Quanto à atividade profissional (Figura 9), a agricultura envolvia o maior número de indivíduos (27%) de ambos os sexos, seguida do serviço doméstico (23,8%) exclusivamente efetuado pela população feminina. Os funcionários públicos constituíam o terceiro maior grupo analisado (20,6%) seguido dos estudantes (16,9%) e dos pescadores (11,6%).

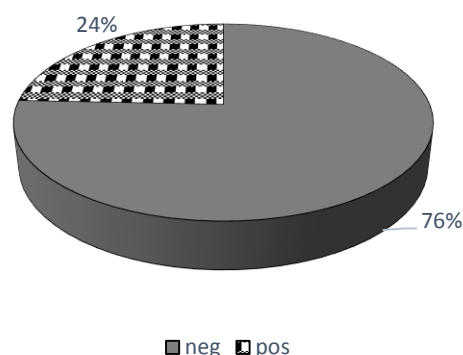


**Figura 9:** Distribuição da população em estudo segundo a atividade profissional. %= Percentagem.

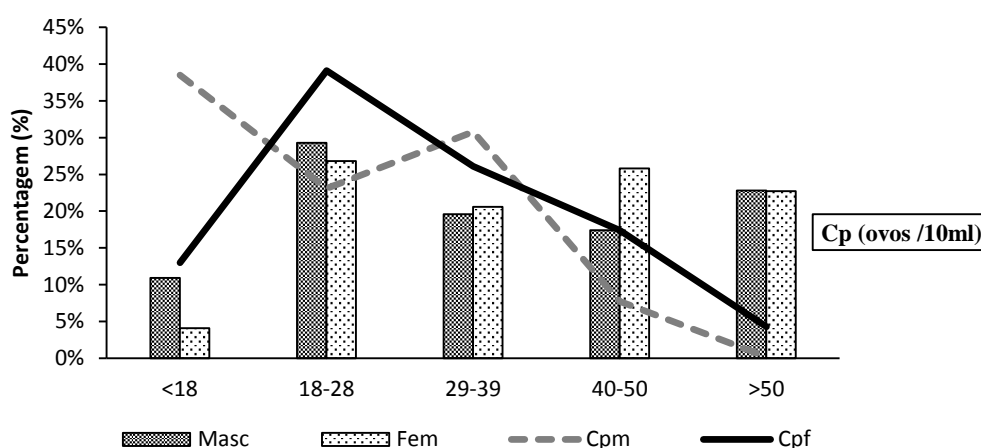
### 3.2.2 Resultados dos exames parasitológicos

#### Prevalência de *S. haematobium*

Das 189 amostras de urina analisadas pelo método de filtração, detetaram-se ovos de *S. haematobium* em 46 (24,3%) sendo as restantes 143 (76) negativas (Figura 10). A carga parasitária variou de 1 a 80 ovos/10 ml de urina, com uma média aritmética de 23,1 ovos/10ml ( $\pm 24,8$  DP) mas a maioria dos doentes parasitados apresentava infeção moderada ( $< 50$  ovos/10 ml). Quanto à idade, verificou-se o padrão clássico da parasitose, com o pico da infeção no grupo dos 14-28 anos e com diferenças significativas ( $\chi^2$ ,  $P \approx 0,000$ ) em relação aos outros grupos etários (Figura 11).



**Figura 10:** Prevalência de *S. haematobium*.



**Figura 11:** Prevalência e intensidade da infeção por *S. haematobium* relação ao sexo e grupo etário.

Cp- carga parasitária; Mas- masculino; Fem-feminino;

Cpm - Carga parasitária masculina; Cpf - carga parasitária feminina.

Relativamente ao sexo, apesar da prevalência da infeção ser superior na população feminina (54,3%) comparativamente à masculina (45,7%), não houve diferenças com significado estatístico ( $\chi^2$ ,  $P=0,637$ ). No entanto, em relação à carga parasitária, as infeções moderadas foram significativamente ( $\chi^2$ ,  $P=0,044$ ) mais frequentes nas mulheres, verificando-se o inverso para as infeções pesadas ( $\geq 50$  ovos/10 ml). Por sua vez, dos 46 doentes parasitados, a maioria era originária da província de Malange (39,1%), seguida dos de Luanda (36,8%), das outras províncias (19,6%) e do Bengo (6,5%) (Tabela 5).

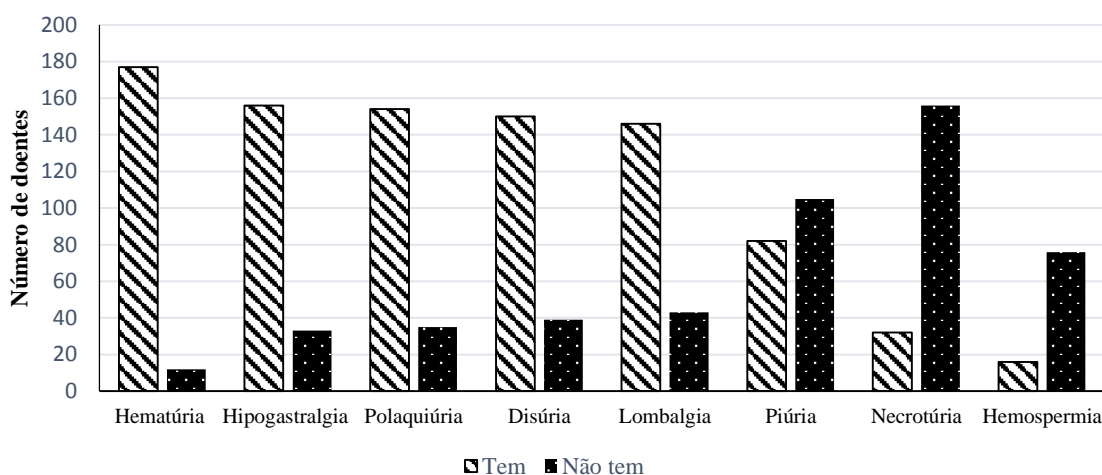
**Tabela 5:** Características demográficas em relação a infeção de *S. haematobium*.

População	<i>S. haematobium</i>				Carga parasitária (ovos/10 ml)				
	Positivo		Negativo		Moderada		Elevada		
Caraterísticas demográficas	N	(%)	N	(%)	<i>P</i>	N	(%)	N	(%)
<b>Género</b>					0,637**				0,044*
Masc	21	(45,7)	71	(49,7)		13	(36,1)	8	(50)
Fem	25	(54,3)	72	(50,3)		23	(63,9)	2	(20)
<b>Grupo etário</b>					0,000*				0,000*
<18	10	(21,7)	4	(2,8)		8	(22,2)	2	(20)
18-28	16	(34,8)	37	(25,9)		12	(33,3)	4	(40)
29-39	11	(23,9)	27	(18,9)		10	(27,8)	1	(10)
40-50	6	(13)	35	(24,5)		5	(13,9)	1	(10)
>50	3	(6,5)	40	(28)		1	(2,8)	2	(20)
<b>Províncias</b>					0,470**				0,323**
Malange	18	(39,1)	54	(37,8)		16	(44,4)	2	(20)
Luanda	16	(34,8)	39	(27,3)		10	(27,8)	6	(60)
Bengo	3	(6,5)	21	(14,7)		3	(8,3)	0	(0,0)
Outras	9	(19,6)	29	(20,3)		7	(19,4)	2	(20)

N=número; Masc=Masculino, Fem=Feminino, Outras=Outras províncias; %=percentagem; Moderada=1-49; Elevada= $\geq 50$  ovos/10 ml. \*=Significativa; \*\*=Não significativo.

### Sinais e sintomas referidos pelos doentes

Comparando os sintomáticos e assintomáticos (Figura 12), a hematúria foi o sinal mais frequentemente referido pelos doentes (93%), seguida da piúria (37%). Uma particularidade referida por alguns doentes do sexo masculino (21,7%) foi a presença de sangue no esperma (hemospermia). Em relação à sintomatologia verificámos que a hipogastralgia foi o sintoma clínico predominante (100%) seguida pela disúria (93,5%) e a lombalgia (80,4%).



**Figura 12:** Sinais e sintomas dos doentes referidos pelos doentes.

A ocorrência da maioria destes sinais e sintomas estava significativamente associada à infeção por *S. haematobium*, (Tabela 6) verificando-se também a sua correlação positiva (com exceção da necrotúria) e estatisticamente significativa com a carga parasitária.

**Tabela 6:** Relação entre os sinais e sintomas referidos pelos doentes e o estado parasitológico.

	Não parasitados		Parasitados		$\phi$	$P$
	N=143	(%)	N=46	(%)		
<b>Hematúria</b>					0,148	0,042*
Não tem	119	(83,2)	5	(10,9)		
Tem	24	(16,8)	41	(89,1)		
<b>Disúria</b>					0,198	0,007*
Não tem	36	(25,2)	3	(6,5)		
Tem	107	(74,8)	43	(93,5)		
<b>Hipogastralgia</b>					0,261	0,000*
Não tem	33	(23,1)	0	(0,0)		
Tem	110	(76,9)	46	(100)		
<b>Hemospermia</b>					0,434	0,000*
Não tem	65	(91,5)	11	(52,4)		
Tem	6	(8,5)	10	(47,6)		
<b>Necrotúria</b>					0,19	0,009*
Não tem	113	(79)	44	(95,7)		
Tem	30	(21)	2	(4,3)		
<b>Lombalgia</b>					0,351	0,553**
Não tem	34	(23,8)	9	(19,6)		
Tem	109	(76,2)	37	(80,4)		
<b>Polaquiria</b>					2,357	0,125**
Não tem	30	(21)	5	(10,9)		
Tem	113	(79)	41	(89,1)		
<b>Piúria</b>					0,074	0,312**
Não tem	78	(54,5)	29	(63)		
Tem	65	(45,5)	17	(37)		

N=Número totais de doentes; \*=Diferenças significativas; \*\*= Não significativa.

### 3.3 Resultados imagiológicos

#### 3.3.1 Resultado de exames ecográficos

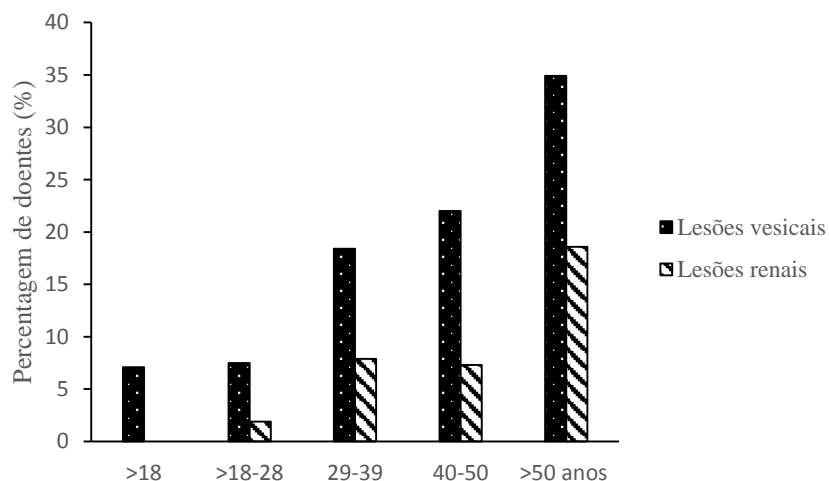
Os resultados da ecografia renal e vesical (Tabela 7) demonstraram que dos 189 doentes, 167 (88,3%) tinham alterações vesicais enquanto em 75 (34,4%) detetaram-se lesões renais de grau variado e independentemente do estado parasitológico (exame direto). A frequência das lesões foi ligeiramente superior no grupo feminino mas sem diferenças com significado estatístico. A salientar a ocorrência simultânea de maior número de doentes (10) com uretero-hidronefrose e lesões vesicais pseudotumorais.

**Tabela 7:** Prevalência das lesões visíveis por ecografia em relação a infeção e sexo.

Exame ecográfico	<i>S. haematobium</i>			Sexo	
	Totais	Negativo	Positivo	Masc	Fem
<b>Ecografia renal</b>	N	N	N	N	N
Sem alteração	124	89	35	62	62
Dilatação da pelve (DP) $\leq$ 1 cm	50	40	10	23	27
DP > 1cm +Dilatação ureter bilateral	15	14	1	7	8
<b>Ecografia vesical</b>					
Sem alteração	22	20	2	14	8
Espessamento da parede vesical	131	90	41	64	67
Lesão pseudo tumoral	36	33	3	14	22

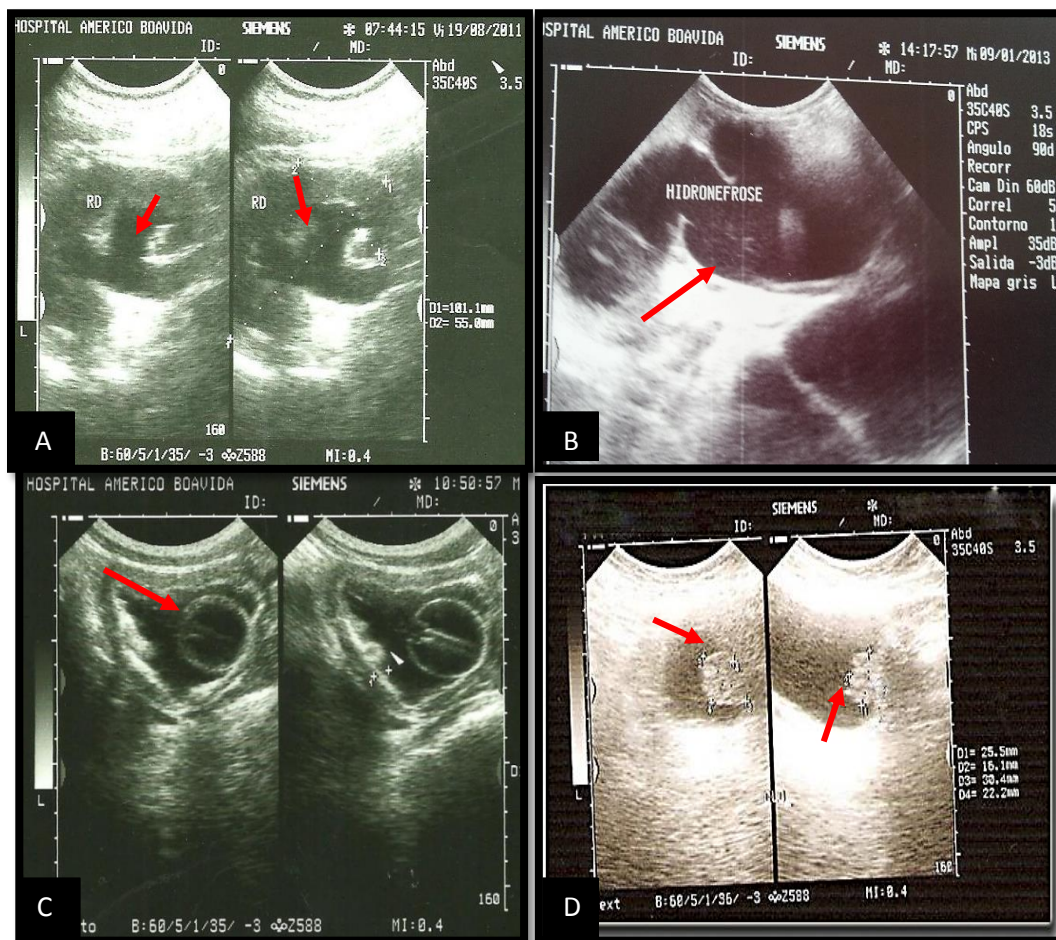
N=Número de doentes; DP=Dilatação da pelve; Masc= Masculino; Fem=Feminino.

A Figura 13 apresenta a prevalência das lesões ecográficas em relação aos grupos etários, observando-se a frequência progressiva das lesões, correlacionada positivamente, com o aumento da idade, (lesões vesicais:  $r_s=0,146$ ;  $P=0,045$  e lesões renais:  $r_s=0,186$ ;  $P=0,011$ ).



**Figura 13:** Prevalência das lesões observadas na ecografia nos grupos etários.

Na ecografia renal foram observadas lesões com dilatação pielocalicial de 1 cm ou superior (Figura 14 A e B), correspondentes a hidronefrose grau II-III (A) e grau IV (B), respectivamente. As imagens ecográficas da bexiga (Figura 14 C e D) mostram as alterações e lesões na parede vesical, nomeadamente espessamento da parede e hiperecogenicidade vesical e massa pseudotumoral.



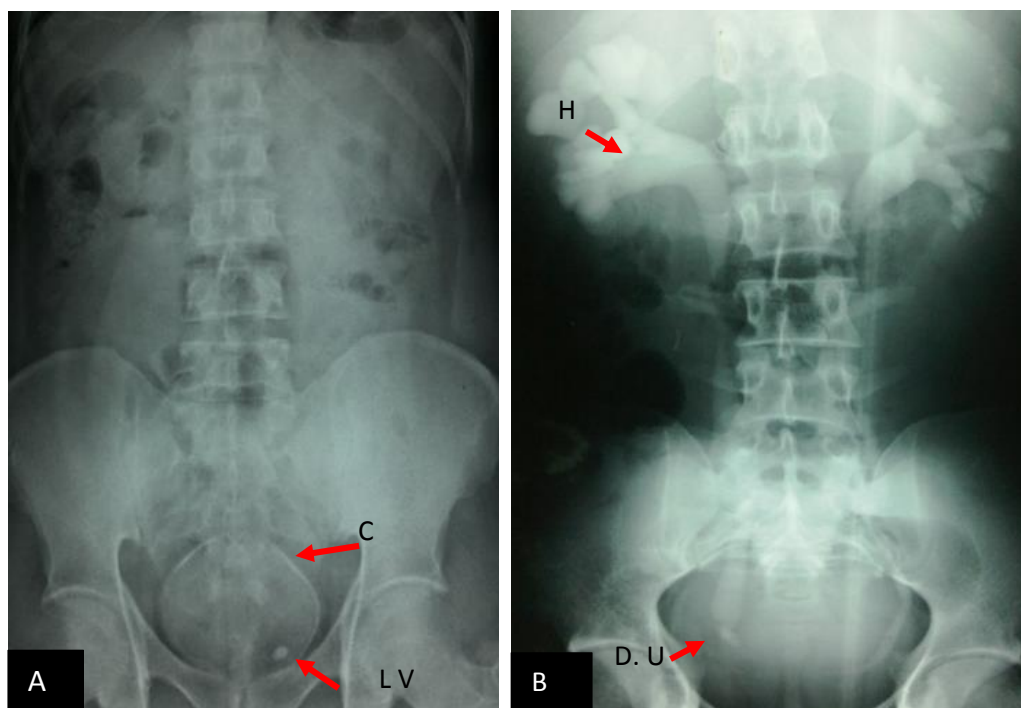
**Figura 14:** Imagens ecográficas em tempo real com lesões visíveis em doentes

A) Dilatação pielocalicial de 1cm de diâmetro (hidronefrose grau II-III); B) Dilatação pielocalicial > 1 cm (hidronefrose grau IV). C) Bexiga com irregularidade da parede vesical e espessamento com balão da algália. D) Massa pseudotumoral.

### 3.3.2 Achados dos exames radiológicos

Os 14 doentes com alterações renais (dilatação pielocalicial > 1 cm) visíveis na ecografia, efetuaram a urografia de eliminação, comprovando não só os resultados dos exames ecográficos mas também uma melhor identificação da patologia vesico-ureteral (Figura 15 A e B). Doze doentes tinham dilatação renal e ureteral bilateral (uretero-hidronefrose), associada a calcificação vesical (CV) e rim ausente à esquerda (um caso) e a litíase vesical e CV (um caso).





**Figura 15:** Lesões observadas por radiografia.

RX simples do abdómen pélvica e Urografia de Eliminação (EU). A) Imagem com rádio-opacidade linear na pelve, sugestivo de calcificação da bexiga “de porcelana” e com cálculo de 2 cm de diâmetro (lado esquerdo). B) Uretero-hidronefrose bilateral e estreitamento distal do ureter direito. H=Hidronefrose; D.U=Dilatação Ureteral; C=Calcificação; LV=Litíase vesical.

### 3.4 Lesões observadas por endoscopia

O exame de uretrocistoscopia permitiu-nos confirmar as lesões visíveis pela ecografia e radiologia. Observamos outras lesões vesicais causadas por *S. haematobium* das quais efetuamos biópsia para análise histológica. Na Tabela 8 verifica-se que a quase totalidade dos doentes (98,4%) apresentava lesões vesicais em diferentes estádios de evolução causadas por *S. haematobium*, das quais 59 (31,3%) eram lesões primárias (estádio 0-I), 84 (44,5%) lesões secundárias (estádio II-III) e lesões terciárias em 9 (4,8%) correspondentes ao estágio IV, traduzindo a fase crónica da doença. Foram identificadas outras lesões não específicas (pseudotumorais) que poderão não ser causadas pelo parasita.

**Tabela 8:** Lesões vesicais causados por *S. haematobium* observadas por cistoscopia.

Exame endoscópico	<i>S. haematobium</i>			
	Estádios	N	Negativo	Positivo
Uretrocistoscopia				
Sem alteração	–	3	3	0
Hiperemia	0	2	1	1
Microgranuloma	I	57	38	19
Tubérculos +Úlceras	II	61	48	13
Tubérculos parcial/ calcificados	III	23	17	6
Cal vesical + Estreit meato ureteral	IV	9	5	4
Cal vesical +Litíase vesical	IV	1	1	0
Lesão pseudo tumoral	–	33	30	3
Total		189	143	46

N=Número; Cal= Calcificação; Estreitamento meato ureteral; Parcial/=Parcialmente.

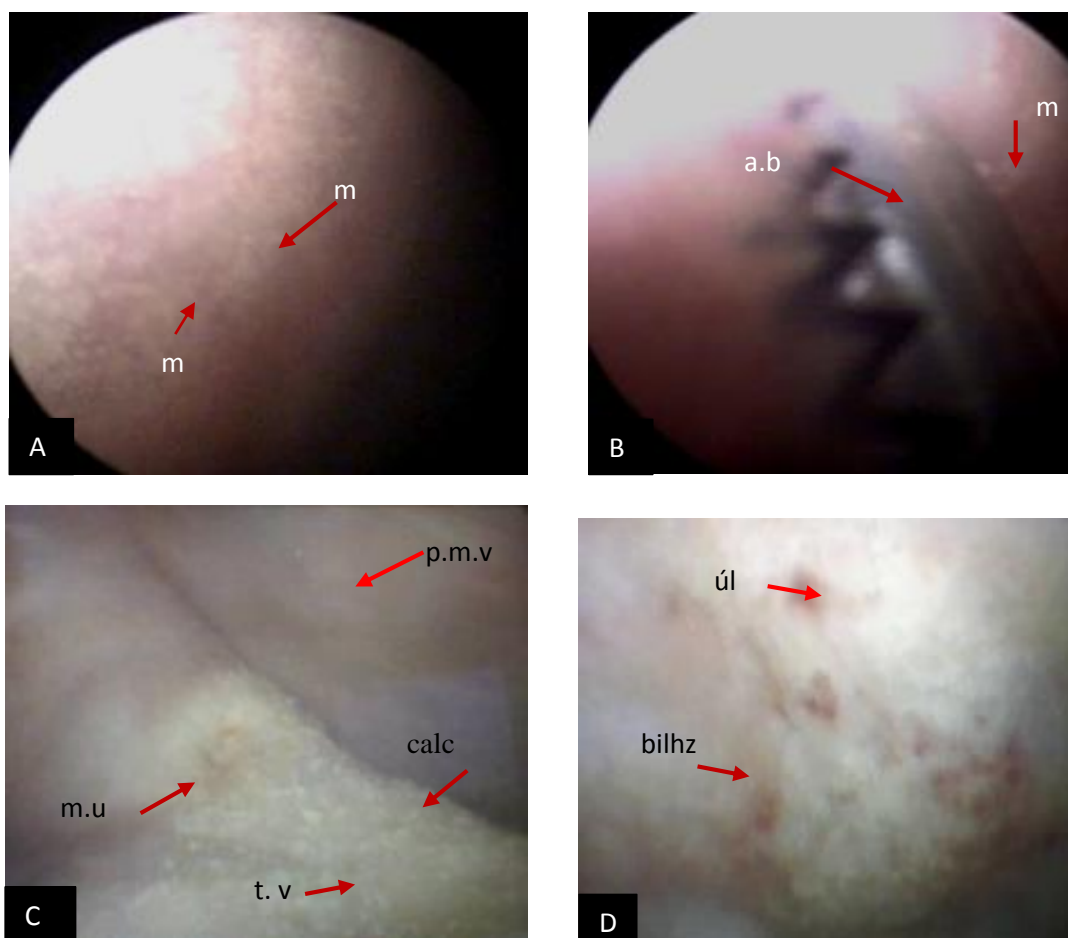
De um modo geral, o grupo etário dos 18-28 anos foi o que apresentou maior número de lesões em quase todos os estádios de evolução no exame de uretrocistoscopia (Tabela 9). Evidencia-se a relação dos casos de lesões pseudotumorais com o aumento gradual da idade, sendo mais frequentes nos maiores de 40 anos. Quanto ao tipo de lesões observadas, 61 doentes apresentaram tubérculos, 57 microgranulomas, 33 lesões pseudotumorais, úlceras foram observadas em 23 e calcificações da parede vesical em 9 casos.

**Tabela 9:** Grupo etário e alterações vesicais por cistoscopia.

Nº de casos								
G etário	Hiper	MicroG	Tubér	Úlceras	Calcif	P/tumor	S/alterações	Total
<18	0	6	7	0	0	1	0	14
18-28	0	16	21	5	9	2	0	53
29-39	2	10	12	9	0	4	1	38
40-50	0	13	10	5	1	10	2	41
>50	0	12	11	4	0	16	0	43
Total	2	57	61	23	10	33	3	189

N=Número; G=Grupo; Hiper=Hiperemia; MicroG=Microgranuloma; Tubér=Tubérculo;  
Calcif= Calcificação P=Pseudo; S=Sem.

Em relação ao estágio das lesões (Chatelain, 1977), a maioria dos doentes (32,3%) apresentava lesões no estágio II (microgranulomas e tubérculos bilharzianos), seguindo-se as lesões primárias (30,2%) correspondentes ao estágio I (hiperémia e microgranulomas em estágio I), sendo as lesões dos estádios III (tubérculos bilharzianos e úlceras) e IV (calcificação, estreitamento dos meatos ureterais e palidez da parede) observadas em 23 (12,2%) e em 10 (5,3%) doentes, respetivamente (Figura 16 A, B, C e D). Apenas dois doentes tinham lesões correspondentes ao estágio 0 (hiperémia da mucosa) e três não apresentavam alterações da mucosa vesical.



**Figura 16:** Lesões endoscópicas visíveis sob visão ótica.

A) e B) Estádios I e II com hiperémia e presença de microgranulomas, biópsia da mucosa vesical com agulha a retirar um fragmento. C) Estádio III - Estenose do meato ureteral e calcificação (setas) D). Estádios III-IV com calcificação do trigono e bilharzioma na parede vesical anterior.

m=microgranulomas; a.b=agulha de biópsia na mucosa vesical; úl=úlceras; bilhz=bilharzioma; m.u= meato ureteral; t.v=trigono vesical calcificado; p.m.v=palidez da mucosa vesical; calc= calcificação

### 3.5 Resultados histológicos

A presença de ovos de *S. haematobium* nas amostras tecidulares identificados em exame histológico confirmou a responsabilidade do parasita como causa direta da patologia e da sua gravidade (Tabela 10). A maioria dos doentes apresentava cistite crónica (75,7%) e em 42 (22,3%) foram identificados carcinomas dos tipos epidermoide (CE) e de células transicionais (CCT). A presença de ovos de *S. haematobium* foi

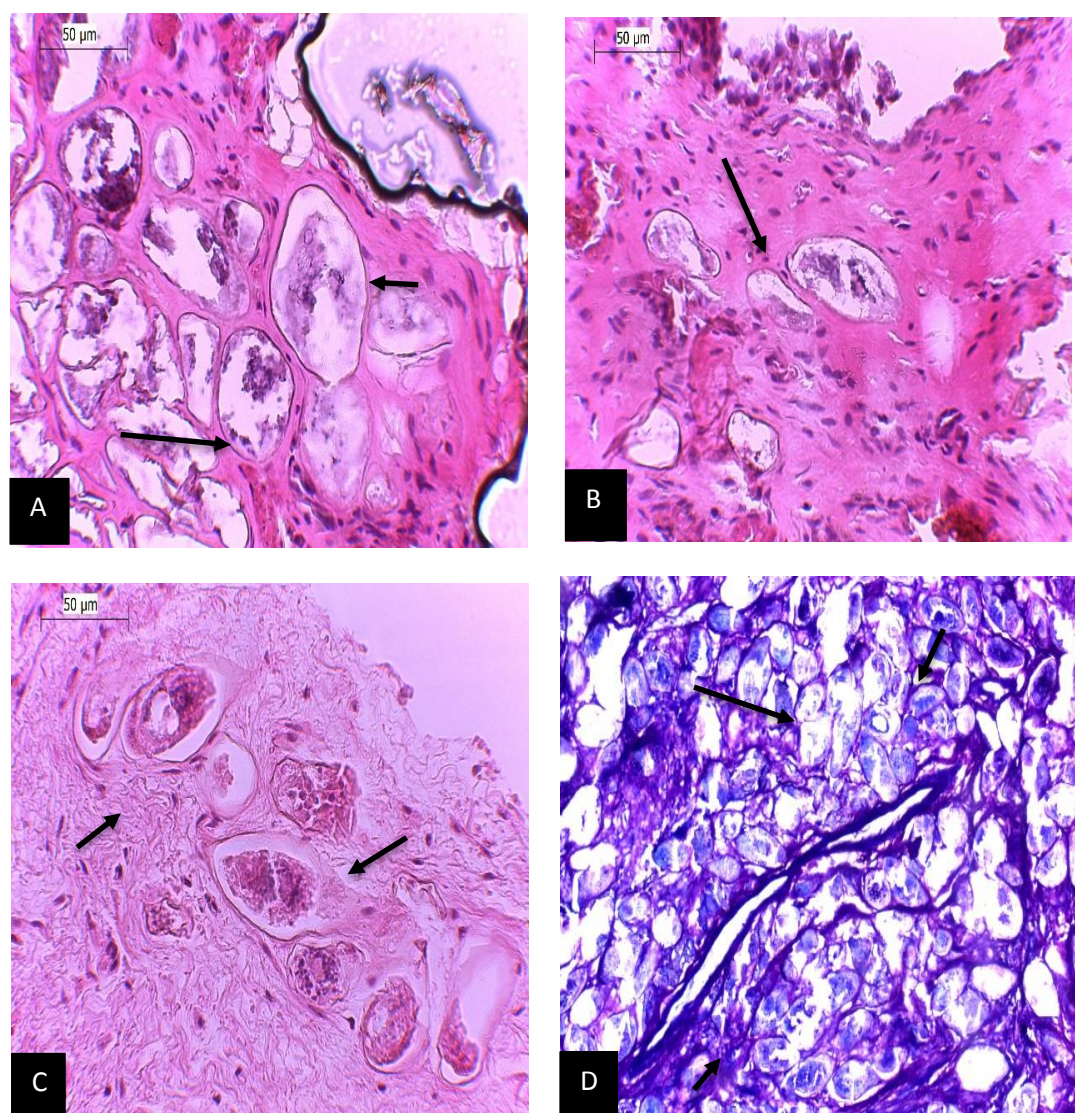
observada na maioria das amostras (156) de biópsia. Apenas quatro amostras não apresentavam alteração.

**Tabela 10:** Tipo histológico associado a presença de ovos de *S. haematobium*.

Tipo histológico Variáveis	Doentes	
	N=189	(%)
Sem alteração	4	(2,1)
Cistite crónica c/ovos	137	(72,5)
Cistite crónica s/ ovos	6	(3,2)
Carcinoma epidermoide (CE) moderado c/ovos	9	(4,8)
Carcinoma epidermoide moderado s/ovos	2	(1,2)
Carcinoma epidermoide bem diferenciado c/ovos	15	(7,9)
Carcinoma epidermoide bem diferenciado s/ovos	7	(3,7)
Carcinoma urotelial s/ ovos	2	(1,3)
Carcinoma urotelial c/ ovos	1	(0,1)
Carcinomas de células transicionais (CCT) c/ovos	1	(0,1)
Carcinoma de células transicionais s/ovos	4	(2,1)
Carcinoma <i>in situ</i> c/ovos	1	(0,5)

s/ovos=sem ovos; c/ovos=com ovos.

Na Figura 17 (A a D) observam-se amostras histológicas da mucosa vesical com lesões causadas por *S. haematobium* onde se evidenciam casos de cistite crónica com ovos calcificados do parasita na mucosa e submucosa e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário com alguns eosinófilos.

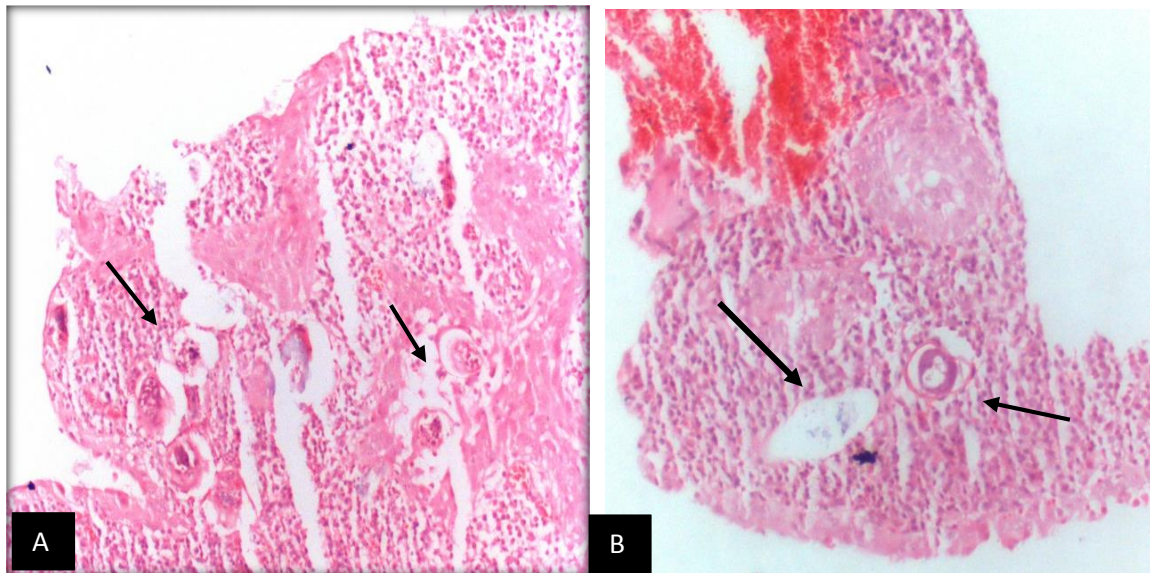


**Figura 17:** Resultados histológicos de fragmentos vesicais com ovos de *S. haematobium*.

Atribuível a cistite crónica na mucosa (A e B) e submucosa (C e D). (A, B e C- HEX 400-1; D - HEX 100-1. As setas indicam ovos de *S. haematobium*.



A Figura 18 (A a B) mostra imagens histológicas de carcinoma epidermoide com ovos calcificados de *S. haematobium* identificados na mucosa vesical.



**Figura 18:** Carcinoma epidermoide com presença de ovos de *S. haematobium* (Setas) (A-HEX 100-1; B - HEX 400-1).

### 3.5.1 Características morfológicas dos carcinomas e estadiamento (TAC).

A maior parte dos carcinomas já se encontrava numa fase invasiva (Grau III) (Tabela 11) com infiltração da parede muscular (T2) e, nalguns casos, com invasão do tecido adiposo (T3) e da cavidade abdominal e pélvica (T4). Contudo, 15 doentes apresentavam tumores não invasivos (Graus I e II), com ou sem infiltração do tecido sub-epitelial.

**Tabela 11:** Grau de invasão e diferenciação dos carcinomas.

Grau do Tumor	Diferenciação	Estádio (TNM)	Carcinoma		
			CE	CCT	Total
			N	N	N
Não invasivo	Grau I e II	Ta, T1,Cis	17	1	18
Invasivo	Grau III	T2, T3, T4	16	8	24
Total			33	9	42

N=Número; CE= Carcinoma Epidermoide; CCT=Carcinoma de Células Transicionais;  
TNM= (Tumor, Nódulo, Metástases).

### 3.6 Avaliação da citologia urinária e do biomarcador NMP22 BLADDERCHEK®

A análise citológica da urina e do teste NMP22 BladderChek® não só confirmaram os resultados histológicos, como identificaram mais casos de carcinoma não detetados na análise histológica (Tabela 12). Apesar do elevado grau de concordância dos dois testes com a histologia (citologia,  $k=0,905$ ,  $P=0,038$ ; NMP22,  $k=0,955$ ,  $P=0,026$ ), o biomarcador NMP22 apresentou uma sensibilidade superior, detetando todos os 42 casos de carcinoma enquanto a análise citológica foi positiva para 38 (90,4%).

**Tabela 12:** Comparação dos resultados histológicos com a citologia e teste NMP22.

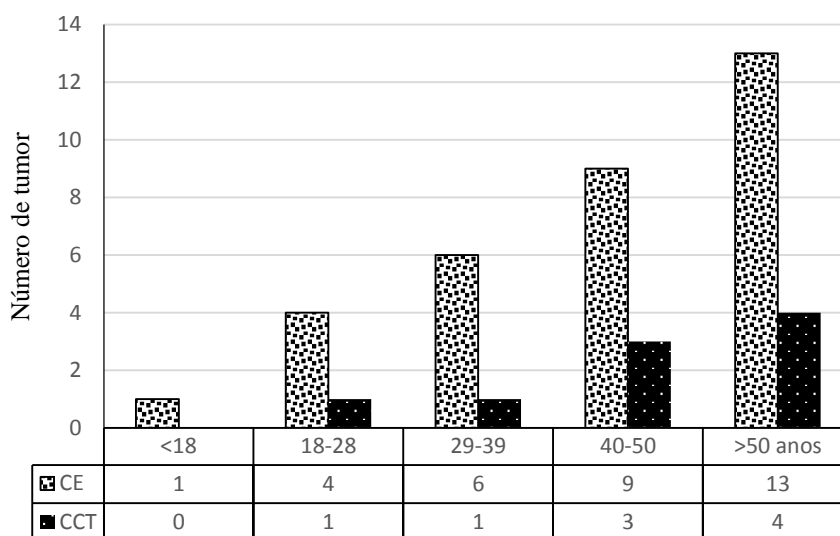
Lesões	Histologia	Citologia		NMP22	
	N	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
S/Alterações	4	4	0	4	0
Cistite crónica	143	142	1	140	3
CE	33	4	29	0	33
CCT	9	1	8	0	9
Total	189	151	38	144	45

N=Número; S=Sem; CE =Carcinoma Epidermoide; CCT=Carcinoma de Células Transicionais.



### 3.6.1 Perfil demográfico e parasitológico associado às lesões induzidas pelo *Schistosoma*

A frequência e tipo de lesões crónicas apresentaram um perfil diferente nos grupos examinados; enquanto os casos de cistite crónica foram significativamente ( $\chi^2$ ,  $P < 0,05$ ) mais frequentes na população masculina e no grupo com idades inferior aos 40 anos (Figura 19), verificou-se o contrário em relação às formas patológicas mais graves, carcinomas epidermoide e de células transicionais, predominantes no grupo feminino e nos maiores de 40 anos (Tabela 13), sendo a média da idade das mulheres de 44,6 anos ( $\pm 12,8$  DP) e de 48,7 anos (19,7 DP) nos homens. De um modo geral os doentes da província de Malange e os agricultores eram os mais atingidos pelos diferentes tipos de lesões patológicas. Quanto aos 46 doentes com exame parasitológico da urina positivo, a maioria (40) foi observada nos casos de cistite crónica e apenas seis nos doentes com carcinoma.



**Figura 19:** Frequência de tumores em relação ao grupo etário.

CE=Carcinoma Epidermoide; CCT=Carcinoma de Células Transicionais.

**Tabela 13:** Frequência das lesões schistosomias nos doentes em relação às características demográficas e estado parasitológico.

	S/ Lesões	Cist/crónica	CE	CCT	Total
	N	N	N	N	N
<b>Género</b>					
Masculino	1	79	9	3	92
Feminino	3	64	24	6	97
<b>Idade</b>					
<40	1	95	12	3	111
>40	3	48	21	6	78
<b>Origem</b>					
Malange	1	55	15	1	72
Luanda	1	44	4	6	55
Bengo	0	17	6	1	24
Outras	2	27	8	1	38
<b>Parasitológico</b>					
Positivo	0	40	5	1	46
Negativo	4	103	28	8	143

N=Número; CE= Carcinoma Epidermoide; CCT=Carcinoma de Células Transicionais; S=Sem Lesões; Cist=Cistite crónica

Em relação ao desenvolvimento de neoplasia vesical certos fatores parecem potencializar a patologia dos quais se destacam: a idade superior aos 40 anos, o género feminino, os sinais clínicos como a presença de necrotúria e piúria, e das atividades profissionais a agricultura (Tabela 14).

**Tabela 14:** Análise multivariada dos fatores associados a neoplasia vesical.

	Neg	Pos	OR	IC	P
<b>Idade (anos)</b>					
<40	106	14	1		
≥40	83	28	3,35	[1,62-6,89]	0,001
<b>Gênero</b>					
Mas	92	12	1		
Fem	97	30	2,98	[1,14-6,28]	0,004
<b>Sinais clínicos</b>					
Necrotúria					
Não	157	14	1		
Sim	32	28	7,15	[2,19-13,32]	<0,001
<b>Piúria</b>					
Não	107	14	1		
Sim	82	28	2,63	[1,04-6,66]	0,041
<b>Hematúria</b>					
Não	12	6	1		
Sim	177	36	3,91	[1,19-12,87]	0,024
<b>Profissão</b>					
Agricultura	51	15	4,03	[1,06-15,07]	0,001

Neg=Negativo; Pos=Positivo; OR =Odds ratio (risco relativo); Masc=Masculino;  
Fem=Feminino; IC= Intervalo de Confiança.

### 3.7 Resultados globais dos exames complementares efetuados

Na comparação dos resultados globais dos exames complementares realizados (Tabela 15), verificou-se uma elevada concordância entre as alterações visualizadas na ecografia com as obtidas na uretrocistoscopia, histologia e com os métodos de diagnóstico de tumor vesical. Das lesões com maior especificidade destacam-se as pseudotumorais e as alterações estruturais da parede vesical bem como a presença de microgranulomas e tubérculos identificados por cistoscopia. A ocorrência de outras patologias associadas à cistite crónica foi diagnosticada em 33 doentes, nomeadamente estenose dos ureteres (13 casos), hiperplasia benigna da próstata (5) e adenocarcinoma da próstata (1), litíase

vesical (1), fístula vesico-vaginal (1), divertículo vesical (1), prostatites (6), cervicites (4), e pielonefrite (1 doente).

**Tabela 15:** Relação da ecografia com os exames de diagnóstico.

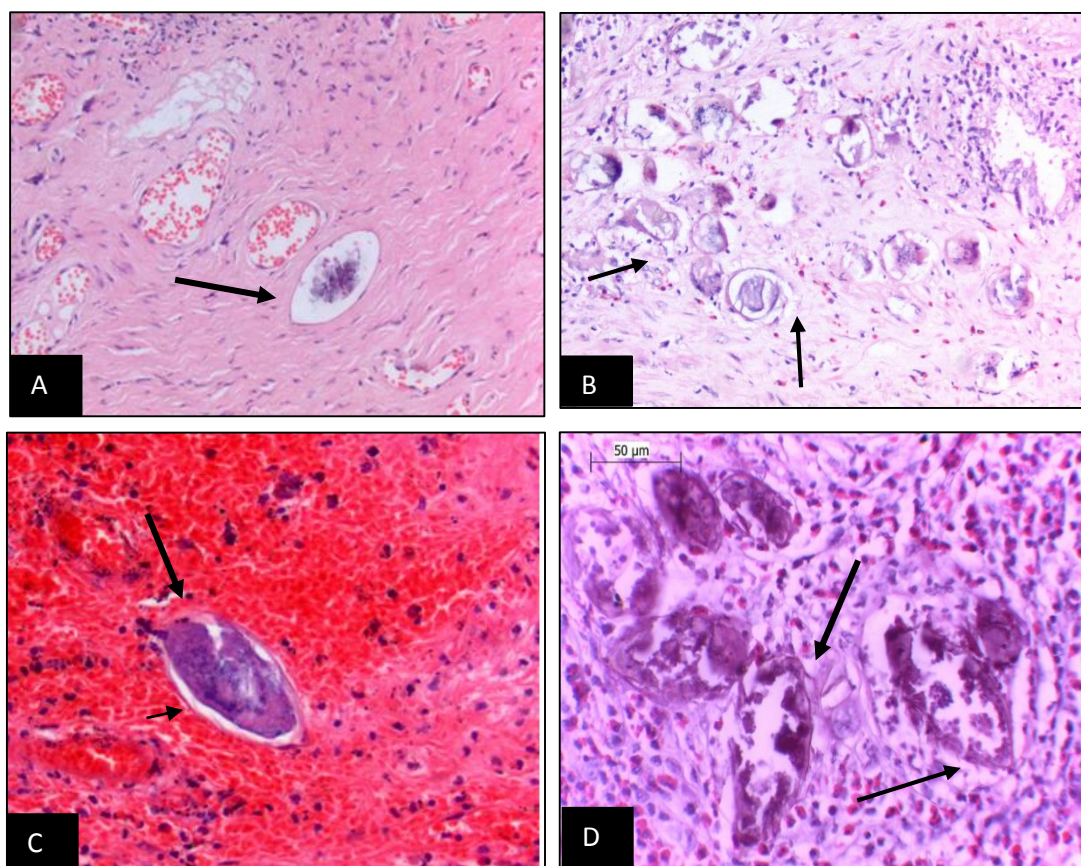
Ecografia	Cistoscopia		Histologia		Citologia		NMP22		
Vesical	N	S/alt	C/alt	S/alt	C/alt	Neg	Pos	Neg	Pos
Sem alteração	22	1	21	1	21	22	0	22	0
Esp da parede	131	2	129	3	128	123	8	121	10
L/ pseudo T	36	0	36	0	36	6	30	1	35
Total	189	3	186	4	185	151	38	144	45

N=Número; S/alt=Sem alteração, C/alt=Com alterações; Neg=Negativo; Pos=Positivo;  
Esp=Espessamento; L/pseudo T= Lesão pseudo tumoral.

### 3.8 Localizações atípicas de *Schistosoma* spp e consequente patologia

Durante o estudo, foram identificadas manifestações clínicas resultantes da localização atípica de *Schistosoma* spp em 28 doentes (15 homens e 13 mulheres) com cistite crónica e com antecedentes de patologia schistosómica, na sequência de intervenção cirúrgica de urgência por peritonite (apendicite aguda, oclusão intestinal) ou cirurgia eletiva (histerectomia total ou parcial, prostatectomia). Os exames histológicos efetuados (Figura 20) confirmaram a presença de ovos de *Schistosoma* spp nos diversos órgãos nomeadamente no apêndice (12 casos), pólo gastrintestinal (1), na próstata (6), no útero e colo uterino (8). Identificou-se, também, um caso de schistosomose cutânea.

Nos exames parasitológicos de urina, foram observados ovos de *S. haematobium* em 4 doentes e, no exame ecográfico renal, 4 dos doentes apresentaram dilatação renal superior a 1cm, sugestiva de hidronefrose grau I-II. Na ecografia vesical, 15 dos doentes apresentaram hipertrofia e aumento da ecogenicidade da parede. A uretrocistoscopia de 21 doentes revelou a presença de hiperémia em cinco (17,9%), associada a microgranulomas e tubérculos em 4 (14,3%), hiperemia e microgranulomas “grãos de areia” em 11 (39,3%) e hipertrofia da mucosa com úlceras e tecido fibroso denso e irregular num caso (3,6%).



**Figura 20:** Fragmento de tecido e resultado histológico dos seguintes órgãos.

A) Fragmento de colo uterino doente com cervicite, B) Fragmento da próstata com adenocarcinoma da próstata, C) e D) Fragmento do apêndice de doente com apendicite. Todas as figuras mostram processo inflamatório com eosinófilos e ovos de *Schistosoma spp* (Setas) Hematoxilina-Eosina (HEX 400-1).

### 3.8.1 Evolução clínica e estado da alta dos doentes

Dos 189 doentes, 137 (72,5%) tinham cistites, das quais 86 associadas a *S. haematobium* foram tratados com Praziquantel 40 mg/kg/dose e 51 tinham simultaneamente outros microrganismos: *Proteus sp* (40; 21%), *Echerichi coli* (25; 13,2%), *Klebsiella sp* (24; 12%), *Staphylococcus sp* (14; 7,4%) que foram medicados de acordo com a sensibilidade aos antibióticos, Nitrofurantoina (65doentes) e Ciprofloxacina (38 doentes), associados ao Praziquantel.

Dos 19 submetidos a tratamento cirúrgico para além do tratamento farmacológico (PZQ) prévio (um mês antes), em 12 doentes com complicações renais, dilatação renal

superior a 1cm por estenose da região distal dos ureteres) realizou-se tratamento cirúrgico (9 reimplantes bilaterais, 3 meatotomias com colocação de Duplo J de 3 a 5 meses), num doente com litíase vesical efetuou-se cistolitotomia, cinco doentes foram submetidos a prostatectomia e uma doente a fistuloplastia vesicovaginal. Em relação aos 18 doentes com tumor invasivo, quatro foram submetidos a cistectomia parcial e 14 tiveram opções para realização do tratamento (4 doentes no exterior do País e 10 optaram por tratamento tradicional). Dos restantes 24 doentes com tumores invasivos, 20 foram submetidos a hemotransfusão e em quatro com insuficiência renal de causa obstrutiva alta (uretero - hidronefroze grau III) efetuou-se derivação externa (nephrostomia) e posteriormente foram encaminhados para o Serviço de Oncologia (cirúrgico, quimioterapia e/ou radioterapia).

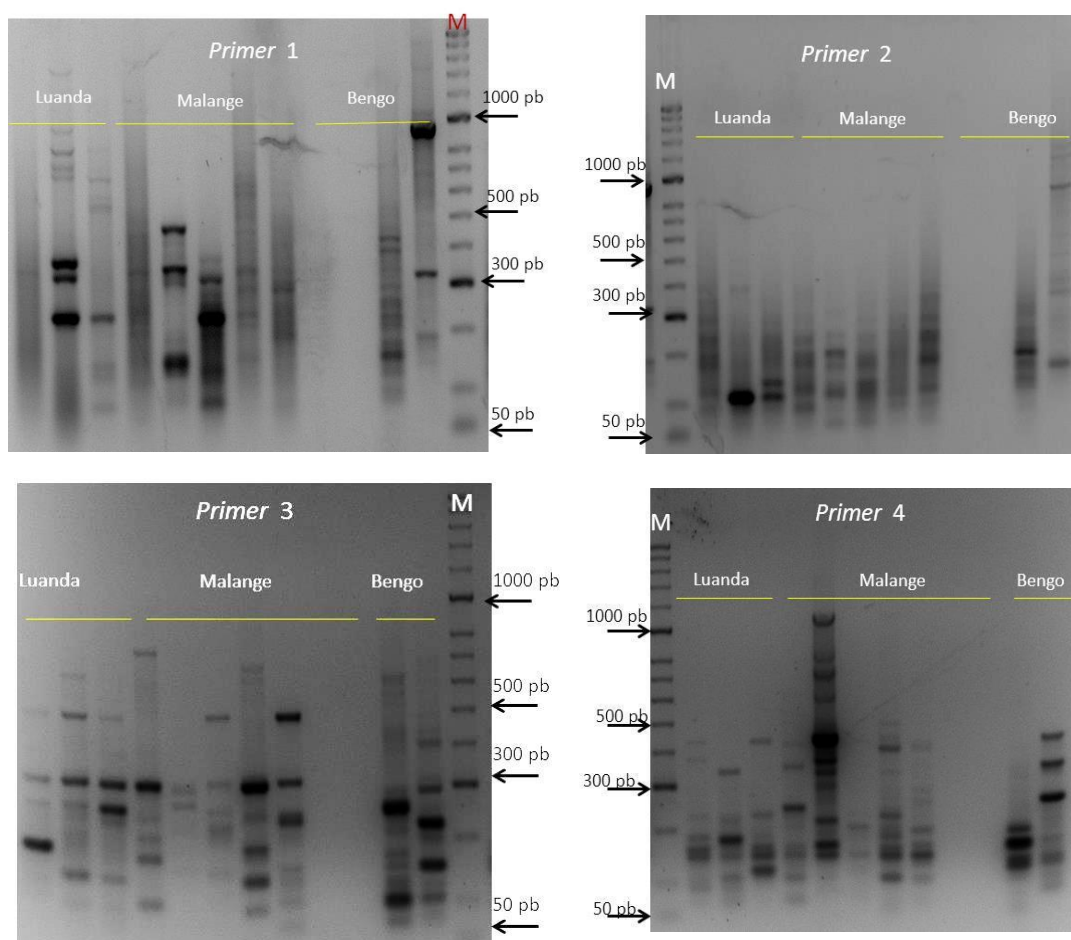
No total, 149 doentes tiveram alta por cura (126 cistites e 23 pós cirurgia) e 14 optaram por tratamento extra-hospitalar. Dezanove doentes mantêm seguimento na Oncologia e, segundo informação desta Unidade, ocorreram 9 óbitos (8 mulheres e 1 homem, média de idade de 46,6 anos) com tumor vesical do tipo invasor e um caso por insuficiência renal crónica com atrofia renal bilateral seguido no Serviço de Nefrologia.

### 3.9 Caracterização genética de *S. haematobium*: resultados preliminares

#### 3.9.1 Amplificação aleatória de polimorfismos de ADN (RAPD)

##### Análise dos fragmentos obtidos

Amostras de ovos de *S. haematobium* obtidas da urina de doentes das três províncias (Malange, Luanda e Bengo) foram caracterizadas com base na técnica de RAPD-PCR. Da amplificação com os quatro *primers* (P1, P2, P3 e P4) obtiveram-se 111 fragmentos polimórficos com pesos moleculares entre 50 a 1000 pb (Figura 21) e (Tabela 16).



**Figura 21:** Gel de agarose a 1,5%, M=Marcador molecular (2000pb).

Amostras das três províncias em estudo com: *Primer 1* (A02), *Primer 2* (A13), *Primer3* (A12), *Primer 4* (Y20).

As amostras da província de Luanda foram as que apresentaram o maior número de bandas polimórficas, com um total de 44, seguindo-se Malange e Bengo, com 37 e 30 bandas respetivamente. O primer 2 (P2) foi o que apresentou maior número de bandas polimórficas (30), no entanto a variação foi pouco marcada em relação aos restantes primers (Tabela 16).

**Tabela 16:** Número de bandas polimorfismórficas obtidas com os quatro *primers*.

<i>Primers</i>	Bengo	Luanda	Malange	<b>Total</b>
P1	6	11	8	25
P2	9	10	11	30
P3	10	9	8	27
P4	5	14	10	29
<b>Total</b>	30	44	37	111

### 3.9.2 Variabilidade genética entre as populações de *Schistosoma haematobium*

Os valores estimados para a diversidade genética determinada pelo Índice de Shannon (*Ho*), ainda que sejam preliminares, variaram entre 0,3775 para as populações da província do Bengo e 0,3517 para as populações da província de Malange (Tabela 17). Estes dados parecem evidenciar alta variabilidade genética inter e intrapopulacional de *S. haematobium* nas três províncias, com um total de 0,3917 ( $\pm$  0,2180), variando entre 0,3775 (Bengo) e 0,3517 (Malange). Resultados concordantes foram obtidos para a diversidade genética de Nei (*He*), cujos valores variaram entre 0,2463 para as populações do parasita da província do Bengo e 0,2346 para as de Malange, sugerindo diferentes níveis de variação intraespecífica.



**Tabela 17:** Índice de Shannon ( $H_o$ ) e diversidade genética ( $H_e$ ) para as amostras de *S. haematobium* das três províncias.

Províncias	Índice de Schannon ( $H_o$ )	Diversidade genética ( $H_e$ )
Bengo	$0,3775 \pm 0,2553$	$0,2463 \pm 0,1894$
Luanda	$0,3662 \pm 0,2570$	$0,2388 \pm 0,1856$
Malange	$0,3517 \pm 0,2836$	$0,2346 \pm 0,2016$
Total	$0,3917 \pm 0,2180$	$0,2485 \pm 0,1735$

## **DISCUSSÃO**

## 4.1 DISCUSSÃO

Na ausência de tratamento, a infecção causada por *S. haematobium* tende a evoluir para a cronicidade, dando origem a um amplo espectro de lesões patológicas graves e por vezes irreversíveis, sobretudo a nível do trato geniturinário (Warren *et al.*, 2002; Gryseels *et al.*, 2006). Apesar da aquisição da infecção ocorrer geralmente na infância, é na idade adulta que se verifica a maior expressão das manifestações patológicas que, pela sua gravidade, contribuem para a elevada morbilidade causada pela parasitose. A utilização de exames complementares de elevada sensibilidade, como os ecográficos, cistoscópicos e histológicos permitem não só avaliar o grau e extensão das lesões na schistosomose urogenital, como a identificação da presença do parasita nas lesões do trato urinário (Shiff *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2008; Khalaf *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2014; Kjetland *et al.*, 2014).

A aplicação desta metodologia no presente estudo e o seguimento dos doentes (com a regularidade possível) permitiu-nos obter um conhecimento mais aprofundado das formas patológicas predominantes quer a avaliação da eficácia das medidas terapêuticas instituídas.

Confirmou-se o padrão da infecção nos adultos, apenas 46 (24,3%) [18-27%, IC a 95%] dos 189 doentes eliminavam ovos de *S. haematobium* (Figura 10), predominando no grupo etário mais jovem (menos de 28 anos). A maioria apresentava uma carga parasitária moderada (< 50 ovos/10 ml de urina) e tanto a infecção como a intensidade do parasitismo eram mais frequentes no grupo feminino, mas apenas se verificaram diferenças com significado estatístico em relação a este último parâmetro (Tabela 11).

Poucos estudos epidemiológicos envolvendo a população adulta têm sido realizados recentemente em Angola; no entanto, os resultados de Figueiredo (2008) e Cardoso (2010) também demonstraram este perfil epidemiológico. Curiosamente, este perfil contrasta com a maioria das observações em áreas endémicas, onde a prevalência é geralmente superior no sexo masculino (Zacharias *et al.*, 2002; Guerra-Silveira e Abad-Franch, 2013).

Os sinais e sintomas relacionados com a infecção por *S. haematobium* são um indicador específico para detetar indivíduos com patologias do trato urinário e, importantes devido ao seu padrão comum em áreas endémicas (Conceição e Silva, 2005),

dos quais se salientam a hematúria, a disúria e a hipogastralgia. A ocorrência de hematúria (Figura 12) foi o sinal mais frequentemente referido por estes doentes (93%), seguido da piúria (37%) e dos sintomas destacam-se a hipogastralgia referida por todos, a disúria (93,5%) e a lombalgia (80,4%), verificando-se uma associação positiva destes sinais e sintomas quer com a infeção ( $\Phi$ ;  $P < 0,001$ ) quer com a carga parasitária (Pearson,  $P < 0,005$ ).

Resultados similares foram encontrados noutros estudos (Doehring *et al.*, 1985; Takougang *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2014), em que observaram uma correlação positiva entre os sinais e a intensidade do parasitismo, bem como com o grau de lesão urinária (MINSA, 2005; Gryseels *et al.*, 2006) reforçando o seu valor potencial em identificar complicações da doença. Na população infantil, a hematúria macroscópica tem uma elevada especificidade como um indicador de infeção e diagnóstico nas zonas endémicas; contudo, em muitas regiões do interior de Angola a hematúria macroscópica é considerada um sinal de puberdade nos jovens do sexo masculino (Figueiredo, 2008) e não atribuída a doença.

Em relação aos exames complementares, as imagens da ecografia renal e pélvica demonstraram a ocorrência de alterações e lesões na parede vesical, nomeadamente espessamento da parede e hiperecogenicidade vesical e massa pseudotumoral na maioria (88,3%) dos 189 doentes examinados (Tabela 7), bem como a presença de hidronefrose bilateral de grau variado (I a III) em 75 (34,4%) dos doentes (Figura 14) dos quais 10 tinham simultaneamente lesões vesicais pseudotumorais.

Com exceção das alterações estruturais da mucosa (espessamento e hipercogenicidade vesical), mais frequentes nos doentes mais jovens, verificou-se uma correlação positiva da frequência e gravidade das lesões com o aumento gradual da idade, tanto para as lesões vesicais ( $r_s=0,146$ ;  $P=0,045$ ) como para as renais ( $r_s=0,186$ ;  $P=0,011$ ). Por sua vez, a deteção de ovos de *S. haematobium*, no exame direto da urina, acompanhou esta tendência, isto é, a sua frequência nas lesões “primárias” e resultado negativo nos casos de patologia mais avançada, o que é sugestivo da cronicidade da infeção parasitária.

A avaliação das lesões vesico-ureterais efetuada por urografia de eliminação intravenosa (UIV) nos doentes com dilatação ureteral e pielocalicial confirmou a presença de uretero-hidronefrose associada, nalguns casos, a imagens radiopacas lineares na parede vesical sugerindo bexiga de porcelana (Figura 15). Segundo Patel e Rizza (2012), em

consequência da lesão causada pela retenção dos ovos de *S. haematobium*, a mucosa torna-se fibrosa, resultando na diminuição da capacidade vesical e a consequente pressão intravesical conduz ao refluxo vesico-ureteral e consequente hidronefrose, constituindo um elemento indicador de estágio avançado da doença, com gravidade do prognóstico e repercussões sobre a função renal. De acordo com Cheever *et al.*, (1975), essa calcificação começa a ter tradução radiográfica a partir de 100 000 ovos por cm<sup>2</sup> de tecido. Resultados similares foram encontrados noutras regiões endêmicas de África (Montalvo Alvarez e Lazo Lopetegui, 1980; Al-Ghorab *et al.*, 1978 e Walker *et al.*, 1997).

Ainda em relação ao exame radiológico e UIV, confirma-se a sua maior utilidade nas fases crônicas da doença, sobretudo para a conduta médico-cirúrgica perante a obstrução, para realização de reimplante ureteral e/ou bexiga de aumento. À semelhança do estudo de Burki *et al.*, (1986), observámos também que este método não é tão eficaz na fase inicial da doença como na fase crónica, uma vez que ao comparar o exame radiológico com a ecografia não foi encontrada uma concordância com a infeção na fase inicial. A perda da função renal com obstrução do ureter e atrofia renal leva o doente a ter de efetuar hemodiálise, conforme o ocorrido com alguns dos nossos doentes.

De acordo com Lehman *et al.*, (1971), Burki *et al.*, (1986) e Christie *et al.*, (1986) a uretero-hidronefrose causada por schistosomose tem repercussões na função renal podendo levar o doente a insuficiência renal. Os nossos resultados são concordantes com os obtidos noutras áreas endêmicas Africanas, onde se estima que cerca de 18 milhões de indivíduos sofram deste tipo de lesões da bexiga e 10 milhões de patologias renais resultantes da infeção (van der Werf *et al.*, 2003).

A uretrocistoscopia é considerada a técnica “*gold standard*” no diagnóstico da patologia da bexiga, sendo a categorização dos estádios de acordo com o tipo específico das lesões definida por Chatelain (1977) a mais usada na schistosomose vesical (Burki *et al.*, 1986; Silva *et al.*, 2006; Khalaf *et al.*, 2012). A sua principal limitação reside na exigência de recursos técnicos e humanos especializados, apenas disponíveis em meio hospitalar. No presente estudo, a uretrocistoscopia confirmou a sua elevada especificidade na caracterização das lesões observadas. Com efeito, foi evidente a diversidade dos estádios das lesões específicas da schistosomose vesical (Tabela 8 e Figura 16) em praticamente todos os doentes (98,4%) sendo as mais frequentes as

correspondentes ao estágio II-III (lesões secundárias a nível do trajeto uretral com microgranulomas).

Nos resultados globais, o maior número de doentes (118; 62,5%) apresentava lesões dos estádios I e II (hiperemia, microgranulações e tubérculos em grãos de areia “*Sandy patches*” com diâmetro  $\geq 5$  mm), predominantes nas idades mais jovens (<30 anos) e nos doentes com exame parasitológico positivo (ovos de *S. haematobium* na urina), verificando-se o contrário nos estádios mais avançados (Tabela 9). Com efeito, os 33 casos de massas pseudotumorais ( $\geq$  de 5 cm, irregulares, cheiro fétido, com tecido esbranquiçado nublado e localização frequentemente a nível do trígono vesical) foram diagnosticados maioritariamente (26; 78,8%) nos doentes acima dos 40 anos e apenas três tinham exame da urina positivo. De salientar a maior ocorrência no grupo etário dos 18-28 anos de lesões dos estádios IV [com evolução para palidez da mucosa, estreitamento dos meatos ureteral com calcificação da parede posterior da bexiga principalmente no trigono (Figura 16, C)] e observamos litíase vesical em um caso.

Confirmando o caráter crónico da infeção, a maioria (87,8%) dos exames histológicos apresentava ovos de *S. haematobium* nas amostras tecidulares (Tabela 10), em contraste com o exame direto, em que a prevalência foi de 24,3% (46/189). Apesar de se verificar a ocorrência de cistite crónica com ovos calcificados (Figura 17) em todos os grupos etários, foi mais frequente nos grupos mais jovens (<28 anos). Quanto aos 42 doentes diagnosticados com carcinoma vesical, de salientar a maior frequência de carcinoma epidermoide em 33 doentes, em comparação com o de carcinoma de células transicionais (CCT) ou urotelial observado em 9 doentes, sendo ambos os tipos predominantes nos maiores de 40 anos.

Este achado não é invulgar e, tal como noutras áreas endémicas de *S. haematobium*, o carcinoma epidermoide é o tipo histológico mais frequentemente associado ao cancro da bexiga (Mungadi & Malami, 2007; Zaghloul, 2012; Rambau *et al.*, 2013) ao contrário do observado em regiões não endémicas e em países industrializados (Europa, América do Norte), onde em cerca de 90% dos casos são de células transicionais e geralmente associados a outros fatores de risco como a exposição ocupacional a potenciais substâncias cancerígenas (aminas aromáticas, ciclofosfamidas e outros químicos e tabaco).

Para alguns autores (Rey, 2001; Rambau *et al.*, 2013), a justificação para a maior frequência de lesões e o tipo escamosos de neoplasia em África será devida à abundância

de ovos de *S. haematobium* nos doentes parasitados promovendo o risco de desenvolvimento de tumor da bexiga.

O exame histológico constitui uma ferramenta essencial no diagnóstico das lesões ectópicas causadas pelo parasita bem como em situações insuspeitadas como o caso interessante de um indivíduo, vítima de acidente de viação e que foi assistido na urgência de Urologia. O doente apresentava quadro agudo com hemoperitoneu, tendo-se realizado a laparotomia exploradora e, no intraoperatório, apresentou rotura da parede posterior da bexiga com 6 cm de diâmetro. Para além disso, tinha a mucosa vesical pálida, muito fina e facilmente friável com pequenos granulomas. Foi feita regularização dos bordos, biópsia, cistorrafia e deixada algália vesical por 10 dias, observando-se uma evolução satisfatória. O resultado histológico revelou ovos de *S. haematobium* e após tratamento com Praziquantel (40 mg/kg), o doente teve alta com seguimento.

A realização da cistoscopia de controlo após 3 meses confirmou diminuição e ausência de algumas lesões na bexiga. Pareceu-nos interessante a coincidência da infeção por *S. haematobium* e trauma, o aspeto da mucosa pálida com pouca elasticidade e facilmente sangrante. Embora a bexiga seja um órgão protegido pelos ossos da pelve e pouco suscetível a traumas externos, a parede vesical em presença de infeção por *S. haematobium* torna-se suscetível ao trauma (Chatelain, 1977) e deverá ser um aspeto a considerar em casos futuros.

Apesar da sua elevada especificidade, a realização dos métodos histológicos tem um carácter invasivo e inclui a preparação específica do doente, sendo por isso difícil de aplicação em estudos epidemiológicos. No entanto, o resultado deste exame foi fundamental no diagnóstico das lesões específicas destes doentes, chamando a atenção para a presença do número elevado de tumores. Na nossa experiência no serviço de Urologia constatamos que é frequente os doentes chegarem ao Hospital já com tumores em fase invasiva, normalmente de difícil conduta terapêutica e com pior prognóstico. Para este facto contribuem diversos aspetos culturais, nomeadamente a preferência em iniciar com tratamentos tradicionais e, só tardiamente recorrem às unidades hospitalares perante a persistência da sintomatologia.

Em relação aos resultados da citologia urinária e os biomarcadores NMP22 BC<sup>®</sup> (Matritech BladderChek<sup>®</sup> Test), realizados antes dos exames de uretrocistoscopia e tendo como referência a histologia, dos 189 testes das amostras de urina, 38 foram positivos

para citologia urinária e 45 para o NMP22 (Tabela 11). A malignidade da doença, detetada por histologia, foi confirmada nos 42 casos com o teste NMP22 e em 37 com a citologia. Para além disso, ambos os métodos deram resultado positivo em mais três casos de cistite crónica que não foram identificados na histologia. Poderá tratar-se de falsos positivos, uma vez que estes doentes estão sob seguimento semestral para eventual presença de neoplasia vesical e até ao momento não foi detetada.

Apesar da maior sensibilidade do biomarcador NMP22, houve um elevado grau de concordância entre os dois testes ( $k=0,892$ ;  $P < 0,001$ ) assim como com os resultados histológicos, demonstrando uma elevada especificidade. A citologia urinária é baseada na alteração morfológica ou indiferenciação das células mas apresenta uma baixa sensibilidade, entre 15% a 39% (Talwar *et al.*, 2007) mas é um dos testes mais económicos para observação de células neoplásicas. Segundo Koss *et al.*, (1985) pode haver dificuldade na interpretação devido às células inflamatórias, mas em estudos com aplicação de coloração, como de Papanicolau, Hodder *et al.*, (2000) identificaram 33% de casos com predisposição de metaplasia escamosa do trato urinário com infeção de *S. haematobium*.

Quanto ao teste NMP22, os estudos de Stampfer *et al.*, (1998) na deteção de cancro da bexiga, referenciam uma sensibilidade de 70% a 80% enquanto para a citologia foi de 10% a 40%. Contudo, Schiff *et al* (2006) obtiveram uma associação entre o resultado histológico e o biomarcador em 40%, para schistosomose vesical e cancro da bexiga. Quanto ao teste NMP22®, sendo um método imunocromatográfico não invasivo e de fácil execução, tem sido utilizado em estudos epidemiológicos no rastreio de tumores de bexiga e diagnóstico de tumores uroteliais (van Rhijn *et al.*, 2005; Hosseini *et al.*, 2012) e está aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA), EUA. A proteína nuclear da matriz 22 desempenha um papel no controlo da regulação da cromatina e separação das células durante a replicação (Jamshidian *et al.*, 2008), sendo bastante sensível na deteção dos tumores tanto de células transicionais como de células escamosas.

Nestes testes verificamos uma particularidade durante a sua leitura; os resultados para os carcinomas em diferentes estádios (T2, T3, e T4) obtiveram-se nos primeiros cinco minutos e para os restantes estádios (T1 e Cis iniciais) o tempo foi superior a 20 minutos, o que está de acordo com as referências do fabricante.



Comparando a “performance” dos métodos NMP22® e a citologia com a ecografia, constatou-se a sua correlação positiva e significativa (Pearson  $P=0,001$ ) sobretudo com a presença irregular da parede vesical e lesão pseudotumoral. Schiff *et al.*, (2006) no Gana usaram biomarcadores (proteína da matriz nuclear) e observaram maior sensibilidade destes testes para tumores de bexiga em comparação com a citologia urinária e, trabalhos de outros investigadores, demonstraram a associação destes biomarcadores aos graus de classificação para tumores de células escamosas e transicionais, o que permite uma melhor conduta no tratamento (Silva-Moraes *et al.*, 2014). Como referido anteriormente, o teste NMP22 demonstrou elevada sensibilidade e especificidade (100% e 97%, respetivamente) com a histologia. Estes resultados, compatíveis com as análises quantitativas de NMP22 realizadas por outros investigadores (Kundal *et al.*, 2010; Jeong *et al.*, 2012) sugerem a sua aplicação no seguimento de doentes com recorrência de tumores após tratamento.

Ao comparar os vários métodos utilizados na avaliação destes doentes (Tabela 14), salienta-se a elevada concordância entre as alterações visualizadas na ecografia com as obtidas na uretrocistoscopia, histologia e com os métodos de diagnóstico de tumor vesical. Das lesões com maior especificidade destacam-se as pseudotumorais e as alterações estruturais da parede vesical bem como a presença de microgranulomas e tubérculos identificados por cistoscopia.

Por sua vez, certos sinais clínicos como a necrotúria, piúria e hematúria parecem ser um forte indicador de neoplasia vesical (Tabela 13), especialmente a necrotúria em carcinomas epidermoide e de células transicionais, e também outras lesões detetadas na imagiologia (cistites crónicas, espessamento da parede vesical e/ou ureter >1 cm) sendo, neste situações, a piúria e hematúria de valor substancial.

À semelhança do observado no resultado parasitológico, as lesões carcinomatosas por *S. haematobium* também foram mais frequentes no sexo feminino (71,4%) comparativamente ao masculino (28,6%) (Figura 19). Padrão similar foi observado em relação à mortalidade onde das 10 mortes ocorridas durante o período de estudo, nove eram mulheres. Estes resultados são discordantes do observado em diversos estudos em que tanto a prevalência de neoplasia e mortalidade associada à schistosomose urogenital tem sido superior nos homens, numa proporção de 4:1 e 5,9:1 (Al-Samawi e Aulaqi, 2013; Chavan, *et al.*, 2014). O fato das mulheres estarem mais expostas aos fatores de risco,

nomeadamente ao contato com coleções hídricas “infetantes”, habitats dos moluscos hospedeiros intermediários *Bulinus globosus*, no rio Bengo e afluentes do rio Kwanza (Chipopa, 2000) devido às atividades domésticas e agrícolas, maioritariamente praticadas pela população feminina, poderá explicar esta diferença observada no nosso estudo. Efetivamente ao ajustar o modelo de regressão logística multivariada (Tabela 13), a agricultura representava um fator de risco significativo (OR=4,03; IC a 95% 1,06-15,07) para a infeção schistosómica.

Quanto à prevalência de neoplasia nos diferentes grupos etários, os nossos resultados estão em concordância com os de outros estudos, observando-se a sua predominância nos maiores de 40 anos. De acordo com Salem *et al.*, (2011), a média da idade para os carcinomas epidermóides tem sido os 40-49 anos, o que se verifica no grupo de doentes examinados.

Apesar da dificuldade em obter dados precisos sobre a mortalidade associada à schistosomose urogenital, estima-se que a infeção crónica seja o fator causal de 50% dos casos de cancro da bexiga em África e Médio Oriente (Parkin, 2006; Eissa *et al.*, 2012; Chavan., *et al.*, 2014). Esta evidência é cada vez mais consistente e consensual, reforçando o papel do parasita na etiologia neoplásica urogenital (WHO, 1994; Parkin, 2006; IARC, 2012).

Os mecanismos envolvidos na carcinogénese na schistosomose vesicais não estão clarificados e são alvo de alguma controvérsia. Alguns estudos histopatológicos de infeções pélvicas com presença de ovos de *S. haematobium* descrevem que o aumento da vascularização se deve à presença dos ovos viáveis que estimulam as células endoteliais e induzem a neovascularização (Gouzou *et al.*, 1984; Sabe *et al.*, 2008; Zaghoul Gouda, 2012). No entanto, a ausência de ovos de *S. haematobium* no exame parasitológico de urina não invalida a possibilidade de infeção crónica e ocorrência de lesões em idades cada vez mais jovens (Khalaf *et al.*, 2012; Bamgbola, 2014).

Para Honeycutt *et al.*, (2014), o desconhecimento dos vários mecanismos responsáveis por essa associação é devido, em parte, à falta de modelos animais suficientes e adequados (Mungadi e Malami, 2007, Sabe *et al.*, 2008, Salem *et al.*, 2011), o que permitiria alcançar novas perspetivas sobre a complexidade e processos biológicos associados à carcinogénese da bexiga por *S. haematobium*, bem como aos associados às

lesões com evolução tumoral observadas em infecções mistas de *S. haematobium* e *S. mansoni* (Ketabchi e Moshtaghi-Kashanian, 2012).

Um dos aspetos que nos impressionou neste estudo foi a elevada prevalência de lesões clínico-patológicas atípicas causadas pelos ovos de *S. haematobium* (Figura 20). O padrão das lesões uroteliais com ovos de *S. haematobium* demonstrou a progressão do parasita atingindo vários órgãos e sistemas, tal como referido por outros autores (Rey, 2001; Senuque Artini *et al.*, 2009; Ladu, 2014). A identificação de cistites crónicas em 28 doentes com schistosomose ectópica, diagnosticada após intervenção cirúrgica de urgência e eletiva, cujo resultado histológico demonstrou ovos de *Schistosoma* spp no apêndice (em 12 doentes), no colo uterino (8), na próstata (6), localização gastrointestinal, um caso (granuloma) e um na pele da nádega (granuloma).

Apesar de não serem frequentes, as localizações ectópicas de schistosomas podem ocorrer em áreas endémicas como comprovado no Zimbabwe (Kjetland *et al.*, 2005) e na Tanzânia (Mazigo *et al.*, 2012) e noutros países africanos (Nandipati *et al.*, 2008; Ladu, 2014). Segundo estes autores, a rica vascularização e a proximidade pélvica com a bexiga, facilitarão as localizações ectópicas geniturinárias, com atingimento do apêndice causando quadro agudo.

Alexis e Domingo (1986) observaram ovos de *S. haematobium* na próstata num caso clínico assim como há referências a vários casos identificados em formas cutâneas (Obasi, 1986; Vargas *et al.*, 2013). A presença de ovos do parasita no útero e órgãos genitais femininos (El-Mahgoub, 1982; Nayama *et al.*, 2007; Kini *et al.*, 2009) poderá ser um fator agravante para infecções sexualmente transmissíveis (Prabhakaran e Brown, 2004; Smith *et al.*, 2008; Kjetland *et al.*, 2014). De acordo com estes autores, as doentes com schistosomose genital nomeadamente cervicites serão mais vulneráveis ao HIV uma vez que as cervicites são comuns e promovem erosões, ulcerações, hipertrofia e pólipos, devido à vascularização do útero e particularmente no período gestacional, a localização dos ovos do parasita é mais intensa no colo uterino.

De acordo com Lambertucci *et al.*, (2008) as formas ectópicas e localizações não habituais do parasita (apêndice e outros órgãos) parecem ser mais frequentes em situações de coinfeção com *S. mansoni*. A deteção de ovos de *S. haematobium* nas fezes e de *S. mansoni* na urina (Meurs *et al.*, 2012) poderão refletir alguma alteração de comportamento e/ou biológica dos vermes adultos das duas espécies.

Das patologias urinárias encontradas associadas a *S. haematobium*, durante o período do presente estudo, as mais frequentes foram as cistites crônicas 137 (72,5%) e tumor vesical 42 (22,2%). As complicações induzidas pela cistite crônica estavam associadas a estenose dos ureteres (7 doentes) e dos meatos ureterais (3) e estes últimos associados a dilatação dos ureteres e renal (uretero-hidronefrose). Resultados similares foram encontrados por Lange (1972), Saad e Hanafy (1974), Zaghloul (2012), Wang *et al.*, (2012), Vancauwenberghe *et al.*, (2013) e Christie *et al.*, (1986). As consequências da evolução da doença incluem insuficiência renal crônica (IRC) e piodrose (Pehrson *et al.*, 1983, Khalaf *et al.*, 2012).

Concomitantemente alguns doentes apresentaram as seguintes frequências de lesões genitais: prostatites associadas a vesiculites com corrimento ureteral e hemospemia cujo espermograma apresentava ovos de *S. haematobium* (6), cervicites com dispareunia (4). Tais complicações estavam associadas a infertilidade feminina (4) e masculina (2). A hiperplasia benigna da próstata foi diagnosticada em cinco doentes e um caso de cada uma das seguintes complicações: carcinoma da próstata, carcinoma do colo uterino, fístula vesicovaginal e dois casos de leiomioma uterino. Vários autores referenciam este tipo de co-morbilidade na schistosomose (Alexis e Domingo, 1986; Basilio-de-Oliveira *et al.*, 2002; Dennis *et al.*, 2009; Savardekar *et al.*, 2010).

Observamos que nos exames laboratoriais as formas complicadas estavam associadas a quadro de anemia de 6-7 mg/dl em vários doentes, tendo sido necessário proceder a hemotransfusão. Os doentes com insuficiência renal de causa obstrutiva alta (uretero-hidronefrose) com níveis elevados de ureia acima de 160 mg/dl e creatinina acima de 2,5 mg/dl foram submetidos a derivações externas (nefrostomia) temporárias. Em cerca de 40 doentes o exame de urocultura foi positivo para infecções bacterianas (Gram-positivas e negativas) por *Escherichi coli*, *Staphylococcus sp*, *Klebsiella sp* e *Proteus sp*.

No total, 149 doentes tiveram alta por cura (126 cistites e 23 pós cirurgia) e 14 optaram por tratamento extra-hospitalar. Dezasseis doentes mantêm seguimento na Oncologia e, como referido previamente, a taxa de mortalidade foi de 30% (9/29) nos doentes oncológicos e um caso por insuficiência renal crônica com atrofia renal bilateral.

Relativamente à distribuição e prevalência da parasitose de acordo com a sua origem (Tabela 2), os doentes da província de Malange foram os que apresentaram maior número de infetados (39,1%), seguindo-se os de Luanda (34,8%), do Bengo e outras províncias (6,3% e 19,6%, respetivamente). Comparando a endemicidade de *S. haematobium* dessas regiões com os estudos realizados na população infantil por Grácio (1977 a) que encontrou na província de Luanda prevalências de 35,3% e 67% (áreas do Bom Jesus e Funda), assim como os obtidos na província de Malange (33,1%) no rastreio efetuado pelo MINSA (2005) e a prevalência no Bengo (28%) obtida por Sousa-Figueiredo *et al.*, (2012) em crianças em idade escolar e mulheres com mais de 15 anos, verifica-se uma concordância com as taxas encontradas no nosso estudo. Qualquer uma destas províncias deverá ser considerada mesoendémica (WHO, 2002a).

Quanto à maior prevalência de *S. haematobium* e patologia associada nos doentes originários de Malange (Tabela 5), este resultado confirmou a nossa observação no serviço de Urologia (HAB). Com efeito, os doentes desta região são os que apresentam, de um modo geral, uma frequência mais elevada de lesões patológicas e carcinomas invasivos e de pior prognóstico. Para além deste aspeto, temos constatado que nos doentes parasitados, sem outras alterações ou coinfeções, a resposta à dose terapêutica de Praziquantel (40 mg/kg) é muitas vezes ineficaz, sendo necessário efetuar mais do que um ciclo de tratamento.

As causas deste padrão permanecem por esclarecer, contudo, é possível que isto ocorra porque a população tem contato mais frequente com as coleções hídricas, atendendo a que é uma região com intensa atividade agrícola e exploração mineira e não existir saneamento básico e água potável em muitas comunidades da província. Para além disso, a coendemicidade com *S. mansoni* poderá potenciar a gravidade das manifestações clínicas, tal como o observado por Meurs *et al.*, (2012) no Senegal. Outras hipóteses a considerar incluem as características intrínsecas da “estirpe” de *S. haematobium* da região que pode estar dotada de maior patogenicidade e/ou a fatores que têm sido propostos em situações similares, nomeadamente fatores genéticos humanos (suscetibilidade) e ambientais (Parkin, 2006; IARC, 2012).

Na verdade estudos recentes sobre genética populacional de schistosomas, com recurso a técnicas de biologia molecular (Gower *et al.*, 2007, 2011), confirmaram a existência de polimorfismos intra e interpopulações de *Schistosoma* spp de diferentes

áreas geográficas (Gower, 2013; Akinwale, 2014). Em relação a *S. haematobium*, Webster *et al.*, (2012) e Glenn *et al.*, (2013) ao estudarem a diversidade genética de populações de *S. haematobium* de diferentes regiões baseada no estudo do ADN “*barcoding*” verificaram a existência de um haplotipo evidenciando que na recente história evolutiva de *S. haematobium* poderá ter havido uma seleção genética seguida por uma expansão da população. Estes dados fornecem um novo conhecimento sobre a genética populacional do parasita, o que irá permitir identificar eventuais genes envolvidos na patologia, na fármaco-resistência e, consequentemente, procurar novas abordagens para o controlo da doença.

Os resultados preliminares da análise baseada na técnica de RAPD-PCR (Neto *et al.*, 1993; Tsai *et al.*, 2000) de ovos de *S. haematobium* isolados na urina dos doentes do nosso estudo (Tabelas 15 e 16), evidenciam a existência de alta variabilidade genética inter e intrapopulacional de *S. haematobium* nas três províncias, baseado no padrão de bandas polimórficas (Figura 21) e nos valores estimados para a diversidade genética de Nei (He) e Índice de Shannon (Ho).

Aparentemente, as populações parasitárias de Malange e Luanda estarão geneticamente mais próximas do que as do Bengo, o que é curioso visto serem as províncias mais afastadas geograficamente. No entanto, não foi determinada a relação parasita-patologia, sendo necessária uma investigação mais aprofundada e aplicação de outros métodos moleculares (por exemplo, microssatélites) para identificação dessa eventual relação.

## **CONCLUSÕES**

## 5.1 Conclusões

A maior procura dos serviços de saúde e, em particular, da especialidade de Urologia no Hospital Américo Boavida, por queixas urinárias, e a elevada casuística de lesões patológicas graves e irreversíveis diagnosticados no serviço em 40% das infeções, aliadas ao aumento de fluxo migratório da população rural para zonas urbanas e à degradação das condições socioeconómicas acentuados nos últimos anos, faz prever que as consequências da infeção atinjam todas as faixas etárias (Figueiredo, 2008).

O programa de controlo da schistosomose, reiniciado no país após longo período de interrupção, que tem como diretrizes prioritárias as designadas pela WHO (2001), nomeadamente o tratamento da população infantil (5-14 anos), associado a outras medidas complementares (educação para a saúde, desenvolvimento de saneamento básico e disponibilidade de água potável), serão um contributo para controlar a parasitose e diminuir a gravidade das suas consequências na saúde da população angolana.

Neste contexto e face aos resultados deste e de outros estudos realizados no país bem como as observações nas instituições de saúde, consideramos de maior importância a inclusão da população jovem e adulta nestes programas de controlo, sobretudo nas regiões com maior exposição aos focos de infeção e com infraestruturas sanitárias e saneamento deficientes. As recomendações recentes para integração da população pré-escolar nos programas de controlo são o reconhecimento da amplitude e impacte da schistosomose a nível das comunidades.

A inclusão deste grupo populacional (jovens e adultos) é justificada pelos indicadores obtidos neste estudo, dos quais salientamos:

- 1) A infeção de *S. haematobium* está relacionada com a morbilidade frequente em Angola e a deteção de casos em estágio inicial possibilitou a realização de tratamento curativo e contribuiu para melhorar a conduta de tratamento e seguimento dos doentes com patologia avançada.
- 2) O exame parasitológico continua a ser um método de diagnóstico eficaz aplicado em estudos epidemiológicos, verificando-se que associado ao exame ecográfico vesical permite detetar e diagnosticar morbilidades urogenital e evitar formas mais graves da doença como a evolução para a insuficiência renal.



3) Observamos também que a ausência de ovos de *S. haematobium* nos exames parasitológicos é justificada pela maior concentração de ovos dos parasitas aderentes à parede vesical, mostrando a fase crónica da doença. O exame radiológico e urografia de eliminação não deixam de ser exames importantes quanto à valorização do estágio das complicações e são úteis para fins de conduta cirúrgica no caso das estenoses do ureter e da morfologia renal.

4) A uretrocistoscopia (*gold standard*) é um método que nos permitiu observar as alterações nos diferentes estádios, realizar a biópsia para diagnóstico das lesões, mas a sua utilização é restrita ao ambiente hospitalar. Como constatamos neste estudo, existe uma elevada correlação entre o resultado ecográfico e os exames parasitológicos dos doentes, no entanto o uso do ecógrafo portátil no campo, será uma mais-valia para estudos epidemiológicos e em locais com serviços de saúde mais limitados (Chiavaroli *et al.*, 2008).

5) Adicionalmente, a utilização de biomarcadores em combinação com a ecografia resultou numa melhor sensibilidade para o diagnóstico de tumores da bexiga. O seu uso em estudos epidemiológicos em regiões de maior risco de infeção e associação com os tumores vesicais, sobretudo os carcinomas de células escamosas, será bastante útil para o diagnóstico precoce e tratamento curativo dos doentes com cancro da bexiga assim como confirmar imagens suspeitas visíveis na ecografia. O facto de ser um método não invasivo e de fácil execução constitui uma vantagem adicional. A valorização dos certos sinais clínicos, como a necrotúria, piúria e hematúria deverá ser considerada, pois constituem indicadores consistentes com neoplasia vesical e outras lesões (cistites crónicas, espessamento da parede vesical e/ou ureter >1 cm).

6) Pensamos que o nosso estudo contribuiu não só para o melhor conhecimento da morbilidade causada por *S. haematobium*, com também para o estabelecimento de uma parceria de intercâmbio de informação de dados registados sobre a morbilidade entre o Hospital Américo Boavida, Serviço de Urologia e o Programa Nacional de Endemias de Saúde Pública de Angola (Luanda), na perspetiva de alertar as entidades de saúde para as medidas preventivas e de intervenção adequadas para redução da morbilidade urogenital.

Como conclusão geral e, atendendo a que a infeção por *S. haematobium* evolui para co-morbilidade do trato urinário podendo estar associada ao desenvolvimento de metaplasia urológica, chamamos à atenção para a necessidade da sua deteção precoce, nomeadamente através de testes ou biomarcadores preditivos de patologia urológica, particularmente nas regiões de maior endemicidade de Angola.

#### **4.3 Sugestão para futuras investigações.**

Pelo que foi referido anteriormente, seria útil continuar as pesquisas sobre schistosomose urogenital, na medida em que tivemos algumas limitações com o número de amostras de doentes e seu *follow-up* por dificuldades de deslocação dos mesmos devido a questões financeiras, de transporte e estadia.

No que se refere a questões financeiras, atendendo ao custo elevado dos exames devido ao equipamento especializado, a sua gratuidade deverá ser considerada em futuros projetos, bem como o apoio financeiro aos doentes para o controlo periódico pós-tratamento, de acordo com o protocolo clínico.

Será desejável desenvolver a investigação nas diferentes províncias para uma melhor avaliação da extensão e gravidade da schistosomose e de outras patologias associadas, incluindo a nível genético das populações de *S. haematobium* e/ou formas híbridas, de modo a esclarecer a eventual influência da variabilidade genética na agressividade das lesões observadas nos doentes de certas áreas geográficas.

Estas investigações poderão fornecer indicadores importantes para uma abordagem terapêutica e medidas de controlo mais eficazes.

## **REFERÊNCIAS**

### 5.1 Referências Bibliográficas

ABDEL-HADI, A. M. & TALAAT, M. 2000. Histological assessment of tissue repair after treatment of human schistosomiasis. *Acta Trop*, 77, 91-6.

ABDEL-WAHAB, M. F., ESMAT, G., EL-BORAEY, Y., RAMZY, I., MEDHAT, E. & STRICKLAND, G. T. 2000. The epidemiology of schistosomiasis in Egypt: methods, training, and quality control of clinical and ultrasound examinations. *Am J Trop Med Hyg*, 62, 17-20.

ABDULAMIR, A. S., HAFIDH, R. R., KADHIM, H. S. & ABUBAKAR, F. 2009. Tumor markers of bladder cancer: the schistosomal bladder tumors versus non-schistosomal bladder tumors. *J Exp Clin Cancer Res*, 28, 27.

ABDULRAB, A., SALEM, A., ALGOBATI, F., SALEH, S., SHIBANI, K. & ALBUTHIGI, R. 2013. Effect of school based treatment on the prevalence of schistosomiasis in endemic area in yemen. *Iran J Parasitol*, 8, 219-26.

ABO-MADYAN, A. A., MORSY, T. A. & MOTAWEA, S. M. 2004. Efficacy of Myrrh in the treatment of schistosomiasis (*haematobium* and *mansoni*) in Ezbet El-Bakly, Tamyia Center, El-Fayoum Governorate, Egypt. *J Egypt Soc Parasitol*, 34, 423-46.

ADEYEBA, O. A. & OJEAGA, S. G. T., 2002. Urinary schistosomiasis and concomitant urinary tract pathogens among school children in metropolitan Ibadan, Nigeria *African Journal of Biomedical Research*, 5, 103-107.

AHMED, S. A., MOHAMMED, U., SANDA, R. B., MAKAMA, J., SHEHU, M. S., AMEH, E. A. & MAYUN, A. A. 2014. Schistosomiasis of the appendix in a tertiary hospital in northern Nigeria: a 22-year review. *J Lab Physicians*, 6, 18-21.

- AKINWALE O P., HOCK T, CHIA-KWUNG FAN., ZHENG QI, HAIMO SHEN, EZEH CHARLES, GYANG PAM V., 2014. Differentiating *Schistosoma haematobium* from *Schistosoma magrebowiei* and other closely related schistosomes by polymerase chain reaction amplification of a species specific mitochondrial gene. *Tropical Parasitology*, 4, 38-42.
- AL-GHORAB, M. M., RAHMAN, M. A., EL-RIFAIE, M., HANAFY, H. M., ABOU EL AZM, T., ARAFA, A. & SAAD, S. M. 1978. Radiologic findings of bilharzial (schistosomal) contracted bladder. *Urology*, 11, 303-5.
- AL ADNANI, M. S. & SALEH, K. M. 1983. Schistosomiasis and bladder carcinoma in southern Iraq. *J Trop Med Hyg*, 86, 93-7.
- AL-SAMAWI, A. S. & AULAQI S. M., 2013. Urinary Bladder Cancer in Yemen. *Oman Medical Journal*. Vol. 28,. 5:337-340
- ALEXIS, R. & DOMINGO, J. 1986. Schistosomiasis and adenocarcinoma of prostate: a morphologic study. *Hum Pathol*, 17, 757-60.
- ALMEIDA J, PEDROSA N, LEITE J, FLEMMING T, CARVALHO V, CARDOSO A, 2007. Marcadores tumorais revisão de literatura. *Revista Brasileira de Cancerologia*. 53(3), 305- 316.
- AHMED, S. A., MOHAMMED, U., SANDA, R. B., MAKAMA, J., SHEHU, M. S., AMEH, E. A. & MAYUN, A. A. 2014. Schistosomiasis of the appendix in a tertiary hospital in northern Nigeria: a 22-year review. *J Lab Physicians*, 6, 18-21.
- ALVAREZ MAESTRO, M., RIOS GONZALEZ, E., DOMINGUEZ GARCIA, P., VALLEJO HERRADOR, J., DIEZ RODRIGUEZ, J. & MARTINEZ-PINEIRO, L. 2010. Bladder schistosomiasis: case report and bibliographic review. *Arch Esp Urol*, 63, 554-8.

- ALY, M. S., KHALED, H. M., EMARA, M. & HUSSEIN, T. D. 2012. Cytogenetic profile of locally advanced and metastatic *Schistosoma*-related bladder cancer and response to chemotherapy. *Cancer Genet*, 205, 156-62.
- ANDRADE, Z., A., & SANTANA, T., S. 2010. Angiogenesis and schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, J.4:436-439.
- ARMSTRONG, A. C., BANDEIRA, A. M., CORREIA, L. C., MELO, H. C., SILVEIRA, C. A., ALBUQUERQUE, E., MORAES, J. C., JR., SILVA, A. M., LIMA, J. A. & SOBRAL FILHO, D. C., 2013. Pulmonary artery pressure, gender, menopause, and pregnancy in schistosomiasis-associated pulmonary hypertension. *Arq Bras Cardiol*, 101, 154-9.
- BADMOS, K. B., KOMOLAFE, A. O. & ROTIMI, O., 2006. Schistosomiasis presenting as acute appendicitis. *East Afr Med J*, 83, 528-32.
- BADMUS, T. A., TAKURE, A. O., OSASAN, S. A., OLAJIDE, A. O. & SABAGEH, D. O. 2012. Testicular schistosomiasis: a case report. *Niger Postgrad Med J*, 19, 50-1.
- BAMGBOLA, O. F. 2014. Urinary schistosomiasis. *Pediatr Nephrol*. Doi 10.1007/s00467-013-2723-1
- BARRAL,V., THIS, IMBERT-ESTABLET, D., COMBES, C. & DELSENY, M., 1993. Genetic variability and evolution of the *Schistosoma* genome analyzed by using random amplified polymorphic DNA markers. *Molecular and Biochemical Parasitology* 59: 211-221.
- BASILIO-DE-OLIVEIRA, C. A., AQUINO, A., SIMON, E. F. & EYER-SILVA, W. A. 2002. Concomitant prostatic schistosomiasis and adenocarcinoma: case report and review. *Braz J Infect Dis*, 6, 45-9.
- BELO, S. 1999. Contribuição para o conhecimento da resposta imunitária na infecção humana por *Schistosoma haematobium* antes e após a quimioterapia. Tese de Doutorado. IHMT/UNL, 151.

- BERGQUIST, N. R. 2002. Schistosomiasis: from risk assessment to control. Trends Parasitol, 18 .7, 309-14.
- BETTENCOURT, A. L., PINHO, O., LENZI, H. L. & COSTA, I. M. 1979. Extragenital cutaneous lesions of schistosomiasis *mansoni*: report of two cases. Am J Trop Med Hyg, 28, 84-6.
- BIERMAN, W. F., WETSTEYN, J. C. & VAN GOOL, T. 2005. Presentation and diagnosis of imported schistosomiasis: relevance of eosinophilia, microscopy for ova, and serology. J Travel Med, 12, 9-13.
- BOOTH, M., MWATHA, J. K., JOSEPH, S., JONES, F. M., KADZO, H., IRERI, E., KAZIBWE, F., KEMIJUMBI, J., KARIUKI, C., KIMANI, G., OUMA, J. H., KABATEREINE, N. B., VENNERVALD, B. J. & DUNNE, D. W. 2004. Periportal fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection is associated with low IL-10, low IFN-gamma, high TNF-alpha, or low RANTES, depending on age and gender. Journal of Immunology, 172, 1295-1303.
- BOTTIEAU, E., CLERINX, J., DE VEGA, M. R., VAN DEN ENDEN, E., COLEBUNDERS, R., VAN ESBROECK, M., VERVOORT, T., VAN GOMPEL, A. & VAN DEN ENDE, J. 2006. Imported Katayama fever: clinical and biological features at presentation and during treatment. J Infect, 52, 339-45.
- BOTELHO, M. C., MACHADO, J. C. & DA COSTA, J. M. 2010. *Schistosoma haematobium* and bladder cancer: what lies beneath? Virulence, 1, 84-7.
- BOTELHO, M. C., MACHADO, J. C., BRINDLEY, P. J. & CORREIA DA COSTA, J. M. 2011. Targeting molecular signaling pathways of *Schistosoma haematobium* infection in bladder cancer. Virulence, 2, 267-79.

- BOU, A., GASCON, J., EUGENIA VALLS, M. & CORACHAN, M. 2001. Katayama fever in Spanish tourists: analysis of 25 cases. *Med Clin (Barc)*, 116, 220-2.
- BRANT, S. V., COHEN, A. N., JAMES, D., HUI, L., HOM, A. & LOKER, E. S. 2010. Cercarial dermatitis transmitted by exotic marine snail. *Emerg Infect Dis*, 16, 1357-65.
- BURKI, A., TANNER, M., BURNIER, E., SCHWEIZER, W., MEUDT, R. & DEGREMONT, A. 1986. Comparison of ultrasonography, intravenous pyelography and cystoscopy in detection of urinary tract lesions due to *Schistosoma haematobium*. *Acta Trop*, 43, 139-51.
- BUXEY, K. & SATASIVAM, P. 2012. Pathognomonic radiological findings of chronic urinary schistosomiasis. *ANZ J Surg*, 82, 560-1.
- CABRAL, G. & PITTELLA, J. E. 1989. Tumoural form of cerebellar Schistosomiasis *mansoni*. Report of a surgically treated case. *Acta Neurochir (Wien)*, 99, 148-51.
- CAMPBELL, S. J., SAVAGE, G. B., GRAY, D. J., ATKINSON, J. A., SOARES MAGALHAES, R. J., NERY, S. V., MCCARTHY, J. S., VELLEMAN, Y., WICKEN, J. H., TRAUB, R. J., WILLIAMS, G. M., ANDREWS, R. M. & CLEMENTS, A. C. 2014. Water, Sanitation, and Hygiene (WASH): A Critical Component for Sustainable Soil-Transmitted Helminth and Schistosomiasis Control. *PLoS Negl Trop Dis*, 8, e2651.
- CARDOSO, S. M. P. P. 2010. Schistosomose urinária e helmintoses intestinais: Contribuição para o estudo clínico-epidemiológico e da resposta imune humoral na comunidade angolana Província do bengo (Ibéndua, Sungue e Úlua). Tese de Mestrado, IHMT/UNL. 1-171.
- CARVALHO, A. C. & MEXIA, T. J. 1966. Hospedeiros intermediários de esquistossomas humanos em Angola. *Anais do Instituto de Higiene Medicina Tropical*, 33., 1-2.



- CASELLA, M. L., FANNI, V. S., VERNDL, D. O., BASSO, M. C., MELLO, L. F. & GLINA, S. 2009. Schistosomiasis *mansoni* of the bladder simulating bladder cancer: a case report. Rev Soc Bras Med Trop, 42, 581-2.
- CASTINEIRAS, J., CABELLO TORRES, P., VARO, C., ALCINA, E., SAMPEDRO, M. & RODRIGUEZ-RUBIO, F. 1987. Surgical management in the pathology of the schistosomiasis ureter. Arch Esp Urol, 40, 65-9.
- CESMELI, E., VOGELAERS, D., VOET, D., DUYCK, P., PELEMAN, R., KUNNEN, M. & AFSCHRIFT, M. 1997. Ultrasound and CT changes of liver parenchyma in acute schistosomiasis. Br J Radiol, 70, 758-60.
- CHATELAIN, C. 1977. *Urogenital bilharziasis*. J Urol Nephrol (Paris), 83 Suppl 1, 1-291.
- CHAVAN S, BRAY F, LORTET-TIEULENT J, GOODMAN M, JEMAL A., 2014. International Variations in Bladder Cancer Incidence and Mortality. European Urology, 66:59-73.
- CHEEVER, A. W., YOUNG, S. W. & SHEHATA, A. 1975. Calcification of *Schistosoma haematobium* eggs: relation of radiologically demonstrable calcification to eggs in tissues and passage of eggs in urine. Trans R Soc Trop Med Hyg, 69, 410-4.
- CHIAVAROLI, R., GRIMA, P. & GRIMA, P. 2008. Detection of early liver fibrosis in patients with intestinal schistosomiasis: sonographic and histologic findings in *Schistosoma mansoni* infection. Infection, 36, 585-9.
- CHIPOPA, A. 2000. Contribuição para o conhecimento da schistosomose humana e de helmintas intestinais na província de Luanda \_Angola. Tese de Mestrado, IHMT/UNL. 82.

- CHITSULO, L., ENGELS, D., MONTRESOR, A. & SAVIOLI, L. 2000. The global status of schistosomiasis and its control. *Acta Trop*, 77, 41-51.
- CHITSULO, L., LOVERDE, P. & ENGELS, D. 2004. Schistosomiasis. *Nat Rev Microbiol*, 2, 12-3.
- CHRISTIE, JD., CROUSE D., SMITH JH., *et al* 1986: Patterns of *Schistosoma haematobium* egg distribution in the human lower urinary tract: II. Obstructive uropathy. *Campbell-Walsh, Urology CD-ROM 2007*, *Am J Trop Med Hyg* 1986;35: 752.
- COELHO, L. H., CARVALHO, G. & CARVALHO, J. M. 1979. Carcinoma in situ and invasive squamous cell carcinoma associated with schistosomiasis of the uterine cervix a report of three cases. *Acta Cytol*, 23, 45-8.
- CONCEIÇÃO, M. J. & SILVA, I. M. D. 2005. *Dinâmica das Doenças Infeciosas e Parasitárias*. Coura, Guanabara Koogan, I-II. 2º Edição 966-971.
- DANSO-APPIAH, A., STOLK, W. A., BOSOMPEM, K. M., OTCHERE, J., LOOMAN, C. W., HABBEMA, J. D. & DE VLAS, S. J. 2010. Health seeking behaviour and utilization of health facilities for schistosomiasis-related symptoms in Ghana. *PLoS Negl Trop Dis*, 4 - 867.
- DE BARROS, J. R. 1953. *Schistosomiasis and refractory cystitis*. *Rev Bras Med*, 9, 581-3.
- DENNIS, N., WILKINSON, J., ROBBOY, S. & IDRISSE, A. 2009. Schistosomiasis and vesicovaginal fistula. *Afr J Reprod Health*, 13, 137-40.
- DI MARCO, V., CAPRA, M., GAGLIARDOTTO, F., FERRARO, D. & DI STEFANO, R. 2001. Schistosomiasis and antiviral treatment of chronic hepatitis C. *Hepatology*, 34, 850-1.

- DIAZ HERNANDEZ, A., LAZO LOPETEGUI, O., RUIZ PEREZ, A., RAMOS GARCIA, A. & PEREZ AVILA, J. 1984. Schistosomiasis and cancer of the bladder. *Rev Cubana Med Trop*, 36, 258-63.
- DOEHRING, E., EHRLICH, J. H., VESTER, U., FELDMEIER, H., POGGENSEE, U. & BRODEHL, J. 1985. Proteinuria, hematuria, and leukocyturia in children with mixed urinary and intestinal schistosomiasis. *Kidney Int*, 28, 520-5.
- DUFOUR, B. 1974. Segmental prosthetic replacement of the lumbar ureter for stenosis due to schistosomiasis (author's transl). *J Urol Nephrol (Paris)*, 80, 873-8.
- DUMBA, B., 2006. Contribuição para o estudo epidemiológico das schistosomose e helmintoses intestinais, no Planalto Central de Angola - Províncias do Huambo e do Bié: Tese de Mestrado, IHMT/UNL. 115.
- EBLE J.N., SAUTER G., EPSTEIN J.I., SESTERHENN I.A. 2004: *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs*. ARC Press: Lyon. 354.
- EHSANI, L. & OSUNKOYA, A. O. 2013. Schistosomiasis of the prostate: a case report. *Anal Quant Cytol Histol*, 35, 178-80.
- EISENKRAFT, S., LURIE, A. & LURIE, M. 1983. Transitional cell carcinoma of the proximal ureter in schistosomiasis. *Harefuah*, 105, 20-2.
- EISSA SS, M. EL-BOLKAINY N & EISSA MS 2012. Schistosomiasis and Bladder Cancer, In *Schistosomiasis*, Prof. Mohammad Bagher Rokni (Ed.), ISBN: 978-953-307-852-6 (<http://www.intechopen.com>).
- EL-DIN, A. H., PETERS, S. M., ATTIA, W. M., LIU, W. J., EL-TAWIL, G., ALI, M. H. & BELLANTI, J. A. 1983. Immunologic studies of human schistosomiasis. I. Clinical

and immunological findings in acute and chronic schistosomiasis. *Ann Allergy*, 50,182-9.

EL-MAHGOUB, S. 1982. Pelvic schistosomiasis and infertility. *Int J Gynaecol Obstet*, 20, 201-6.

EL RIDI, R., TALLIMA, H., SELIM, S., DONNELLY, S., COTTON, S., GONZALES SANTANA, B. & DALTON, J. P. 2014. Cysteine peptidases as schistosomiasis vaccines with inbuilt adjuvanticity. *PLoS One*, 9, e 85401.

ELAZARY, R., MALY, A., KHALAILEH, A., RUBINSTEIN, C., OLSHTAIN-POPS, K., ALMOGY, G., RIVKIND, A. I. & MINTZ, Y. 2005. Schistosomiasis and acute appendicitis. *Isr Med Assoc J*, 7, 533-4.

ENGELS, D., CHITSULO, L., MONTRESOR, A. & SAVIOLI, L. 2002. The global epidemiological situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. *Acta Trop*, 82, 139-46.

EPELBOIN, L., JAUREGUIBERRY, S., ESTEVE, J. B., DANIS, M., KOMAJDA, M., BRICAIRE, F. & CAUMES, E. 2010. Myocarditis during acute schistosomiasis in two travelers. *Am J Trop Med Hyg*, 82, 365-7.

FELDMEIER, H., KRANTZ, I. & POGGENSEE, G. 1995. Female genital schistosomiasis: a neglected risk factor for the transmission of HIV? *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 89, 237.

FEIL, G., BICHLER, K. H., NELDE, H. J. & ST KRAUSE, F. 1999. Bilharziosis (schistosomiasis) of the bladder. Pathogenesis, therapy and uroprotective measures. *Med Monatsschr Pharm*, 22, 14-8.

FERREIRA, M. P, LOBO, M.R, SOARES S,I., 2003. Identificação de ovos de *Schistosoma intercalatum* –liKe, num doente proveniente da Gâmbia (Africa Ocidental) *Ata Parasitológica Portuguesa*., 10 – 19.

- FIGUEIREDO, CH. J. 2008. Contribuição para o estudo da epidemiologia e morbidade da schistosomose vesical na população adulta de Angola. Províncias de Luanda, Bengo e Kwanza Sul. Tese de Mestrado. IHMT/UNL, 92.
- FIGUEIREDO, J., RICHTER, J., BELO, S., GRÁCIO, M.A. 2013. Urogenital Schistosomiasis Presenting Genital and Urinary Tract Lesions and Abdominal Discomfort in a Steril Angolan Woman. J Genit Syst Disor 2:3. doi:10.4172/2325-9728.1000115.
- FOURCADE, R., JARDIN, A. & CHATELAIN, C. 1977. Bilharzioma of the verumontanum: cause of azoospermia?. J Urol Nephrol (Paris), 83 Suppl 2, 340-2.
- FRIEDMAN, J. F., MITAL, P., KANZARIA, H. K., OLDS, G. R. & KURTIS, J. D. 2007. Schistosomiasis and pregnancy. Trends Parasitol, 23, 159-64.
- FRIIS, H., NDHLOVU, P., KAONDERA, K., FRANKE, D., VENNERVALD, B. J., CHRISTENSEN, N. O. & DOEHRING, E. 1996. Ultrasonographic assessment of *Schistosoma mansoni* and *S haematobium* morbidity in Zimbabwean schoolchildren. Am J Trop Med Hyg, 55, 290-4.
- GARBA, A., PION, S., COUNIL, A., MILET, J., SCHNEIDER, D., CAMPAGNE, G., CHIPPAUX, J. P. & BOULANGER, D. 2010. Risk factors for *Schistosoma haematobium* infection and morbidity in two villages with different transmission patterns in Niger. Acta Trop, 115, 84-9.
- GARCIA-ORIA, M., CODINA CAZADOR, A., GIRONES VILA, J., RODRIGUEZ HERMOSA, J. & PEREZ BUENO, F. 1999. Acute appendicitis due to appendicular schistosomiasis. Rev Esp Enferm Dig, 91, 596-7.
- GELFAND, M., ROSS, C. M., BLAIR, D. M., CASTLE, W. M. & WEBER, M. C. 1970. Schistosomiasis of the male pelvic organs. Severity of infection as determined by

digestion of tissue and histologic methods in 300 cadavers. Am J Trop Med Hyg, 19, 779-84.

GLENN TC, LANCE SL, MCKEE AM, WEBSTER BL, EMERY AM, ZERLOTINI A, OLIVEIRA G, ROLLINSON D, FAIRCLOTH BC., 2013. Significant variance in genetic diversity among populations of *Schistosoma haematobium* detected using microsatellite DNA loci from a genome-wide database. Parasit Vectors. 17;6(1):300. doi: 10.1186/1756-3305-6-300.

GOHARDEHI, S., FAKHAR, M. & MADJIDAEI, M. 2013. Avian schistosomes and human cercarial dermatitis in a wildlife refuge in Mazandaran Province, northern Iran. Zoonoses Public Health, 60, 442-7.

GOMES, L. I., DOS SANTOS MARQUES, L. H., ENK, M. J., DE OLIVEIRA, M. C., COELHO, P. M. & RABELLO, A. 2010. Development and evaluation of a sensitive PCR-ELISA system for detection of *Schistosoma* infection in feces. PLoS Negl Trop Dis, 4- 664.

GOUVRAS, A. N., KARIUKI, C., KOUKOUNARI, A., NORTON, A. J., LANGE, C. N., IRERI, E., FENWICK, A., MKOJI, G. M. & WEBSTER, J. P. 2013. The impact of single versus mixed *Schistosoma haematobium* and *S. mansoni* infections on morbidity profiles amongst school-children in Taveta, Kenya. Acta Trop, 128, 309-17.

GOUZOUV, A., BALDASSINI, B. & OPA, J. F. 1984. Anatomicopathological aspects of genital bilharziasis in women. Med Trop (Mars), 44, 331-7.

GOWER, C.M., SHRIVASTAVA, J., LAMBERTON, P.H.L., ROLLINSON, D., EMERY, A.M., WEBSTER, B.L., KABATEREINE, N.B., WEBSTER, J.P., 2007. Development and application of an ethical and epidemiologically appropriate assay for the multi-locus analysis of *Schistosoma mansoni*. Parasitology 134, 523–536.

GOWER, C.M., GABRIELLI, A.F., SACKO, M., DEMBELÉ, R., GOLAN, R., EMERY, A.M., ROLLINSON, D. & WEBSTER, J.P., 2011. Population genetics of

*Schistosoma haematobium*: development of novel microsatellite markers and their application to schistosomiasis control in Mali. *Parasitology*, 138, 978-994.

GUERRA-SILVEIRA F., ABAD-FRANCH F., 2013. Sex bias in infectious disease epidemiology: patterns and processes. *PLoS One*. 2013 Apr 24;8(4):e 62390. doi: 10.1371/journal.pone.0062390. Print 2013.

GOWER, C.M., GROUVAS, A.N., LAMBERTON, P.H.L., DOEL, A., SHRIVASTAVA, J., MUTOMBO, P.N., MBUTH, J.V., NORTON, A.J., WEBSTER, B.L., STOTHARD, J.R., GARBA, A., LAMINE, M., KARIUKI, C., LANGE, C.N., MKOJI, N.B., KABATEREINE, N.B., GABRIELLI, A.F., RUDGE, J.W., FENWICK A., SACKO, M., DEMBELÉ, R., LWAMBO, N.J.S., TCHUEM TCHUENTÉ L.A., ROLLINSON, D. & WEBSTER, J.P., 2013. Population genetic structure of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* from across six sub-Saharan African countries: implication for epidemiology , evolution and control. *Acta Tropica*, 128, 261-274:

GRACIO, M. A. 1977a. Incidence of bladder bilharziasis in students of the district of Luanda. I. Bom Jesus area. *An Inst Hig Med Trop (Lisb)*, 5, 171-5.

GRACIO, M. A. 1977b. Contribution to the knowledge and incidence of bladder bilharziasis in the district of Benguela. II. Municipality of Vila Mariano Machado (Ganda). *An Inst Hig Med Trop (Lisb)*, 5, 285-8.

GRACIO, M. A. 1977c. Incidence of bladder bilharziasis in students of the district of Luanda. I. Bom Jesus area. *An Inst Hig Med Trop (Lisb)*, 5, 171-5.

GRÁCIO, 1988. The genus, *Bulinus* in São Tomé e Príncipe: frist, record and contribution to the life history. *J. Med. & Appl. Malacol*; 1;165-172.

GRÁCIO, M.A.A. & BRANCO, A.C., 1996. Schistosomiasis in Angola. An analyses of the present situation in Funda, Luanda province. Abstracts XIV Int. Cong Trop Med and Malaria, Nagasaki, Japão, 17-22 Nov, 1996- 368.

- GROVE, D.I., 1990. *A history of human helminthology.. I.* Title. British Library Cataloguing : South Australia;1990. <http://www.users.on.net/david.grove/BOOK.PDF>.
- GRYSEELS, B., & L., K. 2006. Human schistosomiasis. *Lancet*, . 368, 1106-18.
- HAGAN, P. & SHARAF, O. 2003. Schistosomiasis vaccines. *Expert Opin Biol Ther*, 3, 1271-8.
- GLENN TC, LANCE SL, MCKEE AM, WEBSTER BL, EMERY AM, ZERLOTINI A, OLIVEIRA G, ROLLINSON D, FAIRCLOTH BC., 2013. Significant variance in genetic diversity among populations of *Schistosoma haematobium* detected using microsatellite DNA loci from a genome-wide database. *Parasit Vectors*. 17;6(1):300. doi: 10.1186/1756-3305-6-300.
- HATZ, C., JENKINS, J. M., MEUDT, R., ABDEL-WAHAB, M. F. & TANNER, M. 1992. A review of the literature on the use of ultrasonography in schistosomiasis with special reference to its use in field studies. 1. *Schistosoma haematobium*. *Acta Trop*, 51, 1-14.
- HAGAN, P. & SHARAF, O. 2003. Schistosomiasis vaccines. *Expert Opin Biol Ther*, 3, 1271-8.
- HERNÁNDEZ PEREZ, J. A., ARENCIBIA, R. R., SIERRA, R. J., VAZQUEZ, N. J., 1984. Schistosomiasis vesical. Lesiones endoscópicas., *Rev Cub Cir* 23: 284-289.
- HODDER, S. L., MAHMOUD, A. A., SORENSON, K., WEINERT, D. M., STEIN, R. L., OUMA, J. H., KOECH, D. & KING, C. H. 2000. Predisposition to urinary tract epithelial metaplasia in *Schistosoma haematobium* infection. *Am J Trop Med Hyg*, 63, 133-8.
- HONEYCUTT, J., HAMMAM, O., FU, C. L. & HSIEH, M. H. 2014. Controversies and challenges in research on urogenital schistosomiasis-associated bladder cancer. *Trends Parasitol*.1, 8-10



- HOSSEINI, J., GOLSHAN, A. R., MAZLOOMFARD, M. M., MEHRSAI, A. R., ZARGAR, M. A., AYATI, M., SHAKERI, S., JASEMI, M. & KABIRI, M. 2012. Detection of recurrent bladder cancer: NMP22 test or urine cytology? Urol J, 9, 367-72.
- IMAI, K., KOIBUCHI, T., KUMAGAI, T., MAEDA, T., OSADA, Y., OHTA, N., KOGA, M., NAKAMURA, H., MIURA, T., IWAMOTO, A. & FUJII, T. 2011. Cerebral schistosomiasis due to *Schistosoma haematobium* confirmed by PCR analysis of brain specimen. J Clin Microbiol, 49, 3703-6.
- IARC., 2012. Biological agents. Volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum. (International Agency for Research on Cancer);100, 1-441
- JAMSHIDIAN, H., KOR, K. & DJALALI, M. 2008. Urine concentration of nuclear matrix protein 22 for diagnosis of transitional cell carcinoma of bladder. Urol J, 5, 243-7.
- JEONG, S., PARK, Y., CHO, Y., KIM, Y. R. & KIM, H. S. 2012. Diagnostic values of urine CYFRA21-1, NMP22, UBC, and FDP for the detection of bladder cancer. Clin Chim Ata, 414, 93-100.
- JOURDAN, P. M., HOLMEN, S. D., GUNDERSEN, S. G., ROALD, B. & KJETLAND, E. F. 2011a. HIV target cells in *Schistosoma haematobium*-infected female genital mucosa. Am J Trop Med Hyg, 85, 1060-4.
- JOURDAN, P. M., ROALD, B., POGGENSEE, G., GUNDERSEN, S. G. & KJETLAND, E. F. 2011b. Increased vascularity in cervicovaginal mucosa with *Schistosoma haematobium* infection. PLoS Negl Trop Dis, 5, e1170.
- JOURDAN, P. M., RANDRIANASOLO, B. S., FELDMEIER, H., CHITSULO, L., RAVONIARIMBININA, P., ROALD, B. & KJETLAND, E. F. 2013. Pathologic mucosal blood vessels in active female genital schistosomiasis: new aspects of a neglected tropical disease. Int J Gynecol Pathol, 32, 137-40.

- KASSIM, O. O. 1989. Proteinuria and haematuria as predictors of schistosomiasis in children. *Ann Trop Paediatr*, 9, 156-60.
- KASSIS, A. I., WARREN, K. S. & MAHMOUD, A. A. 1978. The *Schistosoma haematobium* egg granuloma. *Cell Immunol*, 38, 310-8.
- KEITA, A. D., DEMBELE, M., KANE, M., FONGORO, S., TRAORE, M., SACKO, M., DIALLO, S., SIDIBE, S., TRAORE, H. A., DOUMBO, O. & TRAORE, I. 2001. Ultrasonographic aspects of urinary schistosomiasis in children of the Dogon plateau and the Niger office; impact of praziquantel treatment. *Bull Soc Pathol Exot*, 94, 335-8.
- KEITA, A. D., SANGHO, H., SACKO, M., DIARRA, Z., SIMAGA, S. Y. & TRAORE, I. 2005. Prevalence of schistomiasis lesions detected by ultrasonography in children in Molodo, Mali. *Gastroenterol Clin Biol*, 29, 652-5.
- KETABCHI, A. & MOSHTAGHI-KASHANIAN, G. 2012. Urinary schistosomiasis with simultaneous bladder squamous cell carcinoma and transitional cell carcinoma. *Iran J Parasitol*, 7, 96-8.
- KHALAF, I., SHOKEIR, A. & SHALABY, M. 2012. Urologic complications of genitourinary schistosomiasis. *World J Urol*, 30, 31-8.
- KIM, J. K., HONG, S. H. & LEE, J. K. 2010. High-level cervical spinal cord stimulation used to treat intractable pain arising from transverse myelitis caused by schistosomiasis. *J Korean Neurosurg Soc*, 47, 151-4.
- KING, C. H. & DANGERFIELD-CHA, M. 2008. The unacknowledged impact of chronic schistosomiasis. *Chronic Illn*, 4, 65-79.
- KINI, S., DAYOUB, N., RAJA, A., PICKERING, S. & THONG, J. 2009. Schistosomiasis-induced male infertility. *BMJ Case Rep*, 1.2.

- KJETLAND, E. F., NDHLOVU, P. D., MDULUZA, T., GOMO, E., GWANZURA, L., MASON, P. R., KUREWA, E. N., MIDZI, N., FRIIS, H. & GUNDERSEN, S. G. 2005. Simple clinical manifestations of genital *Schistosoma haematobium* infection in rural Zimbabwean women. *Am J Trop Med Hyg*, 72, 311-9.
- KJETLAND, E. F., LEUTSCHER, P. D. & NDHLOVU, P. D. 2012. A review of female genital schistosomiasis. *Trends Parasitol*, 28, 58-65.
- KJETLAND, E. F., HEGERTUN, I. E., BAAY, M. F., ONSRUD, M., NDHLOVU, P. D. & TAYLOR, M. 2014. Genital schistosomiasis and its unacknowledged role on HIV transmission in the STD intervention studies. *Int J STD AIDS*.
- KOLAROVA, L., HORAK, P., SKIRNISSON, K., MARECKOVA, H. & DOENHOFF, M. 2013. Cercarial dermatitis, a neglected allergic disease. *Clin Rev Allergy Immunol*, 45, 63-74.
- KONETY, B. R., NGUYEN, T. S., BRENES, G., SHOLDER, A., LEWIS, N., BASTACKY, S., POTTER, D. M. & GETZENBERG, R. H. 2000. Clinical usefulness of the novel marker BLCA-4 for the detection of bladder cancer. *J Urol*, 164, 634-9.
- KOSS, L. G., DEITCH, D., RAMANATHAN, R. & SHERMAN, A. B. 1985. Diagnostic value of cytology of voided urine. *Acta Cytol*, 29, 810-6.
- KUMAR, A., KUMAR R., GUPTA N., 2006. Biological Markers in the Diagnosis of Recurrent Bladder Cancer: Bladder Cancer Markers in Clinical Practice. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 36.3, 172-175.
- KUNDAL, V. K., PANDITH, A. A., HAMID, A., SHAH, A., KUNDAL, R. & WANI, S. M. 2010. Role of NMP22 Bladder Check Test in early detection of bladder cancer with recurrence. *Asian Pac J Cancer Prev*, 11, 1279-82.

- LADU, R. 2014. Schistosomiasis as a rare cause of recurrent acute appendicitis - A case report. *Int J Surg Case Rep*, 5, 159-60.
- LAMBERTUCCI, J. R., VOIETA, I. & BARBOSA, A. J. 2006. *Schistosomiasis mansoni* of the prostate. *Rev Soc Bras Med Trop*, 39, 233-4.
- LAMBERTUCCI, J. R., SILVA, L. C. & MIRANDA, D. 2008. *Schistosomiasis mansoni* of the appendix in a patient with acute appendicitis. *Rev Soc Bras Med Trop*, 41, 217-8.
- LAMBERTUCCI, J. R., SOUZA-PEREIRA, S. R. & CARVALHO, T. A. 2009. Simultaneous occurrence of brain tumor and myeloradiculopathy in schistosomiasis mansoni: case report. *Rev Soc Bras Med Trop*, 42, 338-41.
- LANGE, D. 1972. Boari's operation for ureteral schistosomiasis (apropos of a case). *J Urol Nephrol (Paris)*, 78, 557-8.
- LEHMAN, J. S., JR., FARID, Z., BASSILY, S. & KENT, D. C. 1971. Hydronephrosis, bacteriuria, and maximal urine concentration in urinary schistosomiasis. *Ann Intern Med*, 75, 49-55.
- LEI, J. C., LIU, Z. X. & HUANG, Y. X. 2007. An imported case of *Schistosoma haematobium* infection from Angola. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi*, 25, I.
- LEITÃO, L. 1989. Contribuição para o Estudo da Schistosomiase a *S. haematobium* em Angola. Tese Mestrado. Direção Nacional de Controlo de Endemias: 47.
- LEUTSCHER, P.D., RAHARISOLO, C., PECARRERE, J. L., RAVAOALIMALALA, E. V., SERIEYE, J., RASENDRAMINO, M., VENNERVALD, B., FELDMEIER, H. & ESTERRE, P., 1997. *Schistosoma haematobium* induced lesions in the female genital tract in a village in Madagascar. Elsevier Science .*Acta Trop.*, 66 .1, 27-33.

- LEUTSCHER, P. D., RAMAROKOTO, C. E., HOFFMANN, S., JENSEN, J. S., RAMANIRAKA, V., RANDRIANASOLO, B., RAHARISOLO, C., MIGLIANI, R. & CHRISTENSEN, N. 2008. Coexistence of urogenital schistosomiasis and sexually transmitted infection in women and men living in an area where *Schistosoma haematobium* is endemic. Clin Infect Dis, 47, 775-82.
- LEUTSCHER, P. D., HOST, E. & REIMERT, C. M. 2009. Semen quality in *Schistosoma haematobium* infected men in Madagascar. Acta Trop, 109, 41-4.
- LEWONTIN, M., 1972. The apportionments of human diversity. Evolutionary Biology, New York, 6: 381-382.
- LITTMANN, M. & SEITZ, K. 1998. Ultrasound diagnosis in schistosomiasis. Ultraschall Med, 19, M69-70.
- LOPES, C. 1983. A carcerização vesical na schistosomiase em Angola. Dissertação de Doutorado, 125.
- MAGHEMA TN., 2005. Signs, meanings and actions associated to *haematobium* Schistosomiasis in Sasacaria, Bengo - Angola (Dissertação de Mestrado). Centro de Pesquisas René Racheau, Fundação Osvaldo Cruz. CDD, 22. 616- 963.
- MAROCO, J., 2003. Análise estatística, com utilização do SPSS. 2ª Edição, Edições Sílabo, 508.
- MAZIGO, H. D., NUWAHA, F., KINUNG'HI, S. M., MORONA, D., PINOT DE MOIRA, A., WILSON, S., HEUKELBACH, J. & DUNNE, D. W. 2012. Epidemiology and control of human schistosomiasis in Tanzania. Parasit Vectors, 5, 274.
- MESQUITA, B. 1952. Schistosomiasis of the bladder in Angola. An Inst Med Trop (Lisb), 9, 1185-9.

MEURS, L., MBOW, M., VEREECKEN, K., MENTEN, J., MBOUP, S. & POLMAN, K. 2012. Bladder morbidity and hepatic fibrosis in mixed *Schistosoma haematobium* and *S. mansoni* Infections: a population-wide study in Northern Senegal. PLoS Negl Trop Dis, 6, e1829.

MINSA., 2005. Inquérito nacional sobre a prevalência das helmintíases intestinais e das schistosomíases em crianças de idade escolar: Ministério da Saúde de Angola. 23.

MINSA., 2009. Boletim epidemiológico. Centro de processamento de dados epidemiológicos: Ministério da Saúde de Angola. Edição 9 :10.

MINSA.,2010. Boletim epidemiológico. Centro de processamento de dados epidemiológicos: Ministério da Saúde de Angola. Edição 10 :10

MINSA., 2011. Boletim epidemiológico. Centro de processamento de dados epidemiológicos :Ministério da Saúde de Angola. Edição 11 :10

MINSA 2012. Boletim epidemiológico. Centro de processamento de dados epidemiológicos: Ministério da Saúde de Angola. Edição 12 :10.

MOHAMMED, K. A., HAJI, H. J., GABRIELLI, A. F., MUBILA, L., BISWAS, G., CHITSULO, L., BRADLEY, M. H., ENGELS, D., SAVIOLI, L. & MOLYNEUX, D. H. 2008. Triple co-administration of ivermectin, albendazole and praziquantel in Zanzibar: a safety study. PLoS Negl Trop Dis, 2, e171.

MONTALVO ALVAREZ, G. & LAZO LOPETEGUI, O. 1980. Descending urogram in the evaluation of the complications of urinary schistosomiasis. Rev Cubana Med Trop, 32, 93-100.

MONTRESOR, A., GABRIELLI, A. F., CHITSULO, L., ICHIMORI, K., MARIOTTI, S., ENGELS, D. & SAVIOLI, L. 2012. Preventive chemotherapy and the fight against neglected tropical diseases. Expert Rev Anti Infect Ther, 10, 237-42.

- MUNGADI, I. A. & MALAMI, S. A. 2007. Urinary bladder cancer and schistosomiasis in North-Western Nigeria. *West Afr J Med*, 26, 226-9.
- MURINELO, A., GERMANO N., MENDONÇA P., CAMPO C. & GRÁCIO A. 2006. Caso Clínico / Clinical Case Liver Disease Due To *Schistosoma guineensis* 13.
- MUSUVA, R. M., AWITI, A., OMEDO, M., OGUTU, M., SECOR, W. E., MONTGOMERY, S. P., ALAII, J. & MWINZI, P. N. 2014. Community Knowledge, Attitudes and Practices on Schistosomiasis in Western Kenya-The SCORE Project. *Am J Trop Med Hyg*, 90, 646-52.
- NANDIPATI, K., PARITHIVEL, V. & NIAZI, M. 2008. Schistosomiasis: a rare cause of acute appendicitis in the African American population in the United States. *Am Surg*, 74, 221-3.
- NAYAMA, M., GARBA, A., BOULAMA-JACKOU, M. L., TOURE, A., IDI, N., GARBA, M., NOUHOUE, H. & DECANTER, C. 2007. Uro-genital schistosomiasis with *S. haematobium* and infertility in Niger. Prospective study of 109 cases. *Mali Med*, 22, 15-21.
- NDEFFO MBAH, M. L., KJETLAND, E. F., ATKINS, K. E., POOLMAN, E. M., ORENSTEIN, E. W., MEYERS, L. A., TOWNSEND, J. P. & GALVANI, A. P. 2013a. Cost-effectiveness of a community-based intervention for reducing the transmission of *Schistosoma haematobium* and HIV in Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110, 7952-7.
- NDEFFO MBAH, M. L., POOLMAN, E. M., DRAIN, P. K., COFFEE, M. P., VAN DER WERF, M. J. & GALVANI, A. P. 2013b. HIV and *Schistosoma haematobium* prevalences correlate in sub-Saharan Africa. *Trop Med Int Health*, 18, 1174-9.
- NEAL, P. M. 2004. Schistosomiasis--an unusual cause of ureteral obstruction: a case history and perspective. *Clin Med Res*, 2, 216-27.

- NETO E, PEREIRA-SOUSA C, ROLLINSON D, KATZ N, PENA SD, SIMPSON AJG, 1993. The random amplification of polymorphic DNA allows the identifications of strains and species of schistosome. *Mol Bioch Parasitoly*, 57 .1: 83-88.
- OBASI, O. E. 1986. Cutaneous schistosomiasis in Nigeria. An update. *Br J Dermatol*, 114, 597-602.
- OKOLI, C. G., J.C., A. & IWALA, M. O. E. 2006. Prevalence and Distribution of UrinarySchistosomiasis in Ohaji/Egbema Local Government Area of Imo State, Nigeria *J Am Science*, 2 .4:45-48.
- OMS, 1983. La lutte contre la schistosomiase. *Rel Org, Mond, Santé* .46pp.
- OMS, 1991. Basic Laboratory Methods In Medical Parasitology, World Health Organ.,114 pp.
- PATEL, S. M. & RIZZA, S. A. 2012. The porcelain bladder: schistosomiasis. *Am J Med*, 125, 1178-80.
- PATIL, P. S. & ELEM, B. 1988. Schistosomiasis of the prostate and the seminal vesicles: observations in Zambia. *J Trop Med Hyg*, 91, 245-8.
- PARKIN D.M., 2006. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer*,118:3030–44.
- PEHRSON, P. O., BENGTSSON, E., DIEKMANN, H. W. & GROLL, E. 1983. Treatment with praziquantel in a patient with schistosomiasis and chronic renal failure. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 77, 687-8.



- PEREIRA, J., CALLEJA, E., MARNE, C. & BORQUE, A. 2014. Vesical Schistosomiasis With Terminal Hematuria in Sub-Saharan Patients. *Actas Urol Esp*, 38, 133-137.
- PHILLIPS, S. M., REID, W. A., DOUGHTY, B. L. & BENTLEY, A. G. 1980. The immunologic modulation of morbidity in schistosomiasis. Studies in athymic mice and in vitro granuloma formation. *Am J Trop Med Hyg*, 29, 820-31.
- PILLAY, P., TAYLOR, M., ZULU, S. G., GUNDERSEN, S. G., VERWEIJ, J. J., HOEKSTRA, P., BRIENEN, E. A., KLEPPA, E., KJETLAND, E. F. & VAN LIESHOUT, L. 2014. Real-Time Polymerase Chain Reaction for Detection of *Schistosoma* DNA in Small-Volume Urine Samples Reflects Focal Distribution of Urogenital Schistosomiasis in Primary School Girls in KwaZulu Natal, South Africa. *Am J Trop Med Hyg*, 90, 546-52.
- POGGENSEE, G., FELDMIEIER, H. & KRANTZ, I. 1999. Schistosomiasis of the female genital tract: public health aspects. *Parasitol Today*, 15, 378-81.
- PRABHAKARAN, V. C. & BROWN, L. J. 2004. Cervical schistosomiasis and neoplasia in HIV-infected patients. *Int J Gynecol Pathol*, 23, 403-4.
- RAMBAU, P. F., CHALYA, P. L. & JACKSON, K. 2013. Schistosomiasis and urinary bladder cancer in North Western Tanzania: a retrospective review of 185 patients. *Infect Agent Cancer*, 8, 19.
- REY, L. 2001. *Parasitologia Parasitas e Doenças parasitárias do homem nas Américas e na África*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 3 -856.
- RICHTER, J., WAGATSUMA, Y., ARYEETEEY, M. & FELDMIEIER, H. 1996. Sonographic screening for urinary tract abnormalities in patients with *Schistosoma haematobium* infection: pitfalls in examining pregnant women. *Bull World Health Organ*, 74, 217-21.

- RICHTER, J., DOMINGUES, A. L., BARATA, C. H., PRATA, A. R. & LAMBERTUCCI, J. R. 2001. Report of the second satellite symposium on ultrasound in schistosomiasis. Mem Inst Oswaldo Cruz, 96 Suppl, 151-6.
- ROOSBROECK, P.V., BENTTECOURT, J. & HUONGO, A., 2006. Atualização do Perfil Ambiental de Angola. Ref MWH 470/000883-22.001., 1:95.
- RUIZ PEREZ, A., RAMOS GARCIA, A., PELAEZ CASTRO, E. & GARCIA HUMARAN, G. 1990. Clinical, laparoscopic and histologic study of 60 patients with schistosomiasis *mansoni*. Rev Cubana Med Trop, 42, 231-9.
- RUSHTON H.G. & MAJD M. 1995 Pyelonephritis in male infant: How important is foreskin? J. Urol, 148 (2pt 2): 733-736.
- SAAD, S. A. & HANAFY, H. M. 1974. Bilharzial (schistosomal) ureteritis cystica. Urology, 4, 261-6.
- SABE, I., MANGOUD, A. M., ELALFY, Y., ELSAYED, M., SHAABAN, W., HAFEZ, A. O., EL SHERBINI, G. T. & MORSY, A. T. 2008. New concept of schistosomiasis lesions of urinary bladder versus development of bladder cancer. J Egypt Soc Parasitol, 38, 85-102.
- SALEM, S., MITCHELL, R. E., EL-ALIM EL-DOREY, A., SMITH, J. A. & BAROCAS, D. A. 2011. Successful control of schistosomiasis and the changing epidemiology of bladder cancer in Egypt. BJU Int, 107, 206-11.
- SALEM, H. K. & MAHFOUZ, S. 2012. Changing patterns (age, incidence, and pathologic types) of *Schistosoma*-associated bladder cancer in Egypt in the past decade. Urology, 79, 379-83.

- SAVARDEKAR, L. S., BALAIAH, D. & MALI, B. N. 2010. Association of *Schistosoma haematobium* and human papillomavirus in cervical cancer: a case report. *Acta Cytol*, 54, 205-8.
- SAVIOLI, L., ALBONICO, M., ENGELS, D. & MONTRESOR, A. 2004. Progress in the prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. *Parasitol Int*, 53, 103-13.
- SENUQUE ARTINI, M., LOPEZ DE CENARRUZABEITIA, I., RODRIGUEZ CONDE, N., LANDOLFI, S. & ARMENGOL CARRASCO, M. 2009. Schistosomiasis as a cause of acute appendicitis. *Cir Esp*, 85, 387-9.
- SHIFF, C., BROUWER, K. C. & CLOW, L. 2000. *Schistosoma haematobium*: population genetics of *S. haematobium* by direct measurement of parasite diversity using RAPD-PCR. *Exp Parasitol*, 96, 47-51.
- SHIFF, C., VELTRI, R., NAPLES, J., QUARTEY, J., OTCHERE, J., ANYAN, W., MARLOW, C., WIREDU, E., ADJEL, A., BRAKOHIAPIA, E. & BOSOMPEM, K. 2006. Ultrasound verification of bladder damage is associated with known biomarkers of bladder cancer in adults chronically infected with *Schistosoma haematobium* in Ghana. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 100, 847-54.
- SIDDIQUI, A. A., SIDDIQUI, B. A. & GANLEY-LEAL, L. 2011. Schistosomiasis vaccines. *Hum Vaccin*, 7, 1192-7.
- SILVA, I. M., THIENGO, R., CONCEICAO, M. J., REY, L., PEREIRA FILHO, E. & RIBEIRO, P. C. 2006. Cystoscopy in the diagnosis and follow-up of urinary schistosomiasis in Brazilian soldiers returning from Mozambique, Africa. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 48, 39-42.
- SILVA, I. M., PEREIRA FILHO, E., THIENGO, R., RIBEIRO, P. C., CONCEICAO, M. J., PANASCO, M. & LENZI, H. L. 2008. Schistosomiasis haematobia:

histopathological course determined by cystoscopy in a patient in whom praziquantel treatment failed. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 50, 343-6.

SILVA-MORAES, V., FERREIRA, J. M., COELHO, P. M. & GRENFELL, R. F. 2014. Biomarkers for schistosomiasis: Towards an integrative view of the search for an effective diagnosis. *Acta Trop*, 132C, 75-79.

SMITH, R. S., EMAIL, A., TANAGHO, J. W., MCANIN, C. H. & 1994. *Urologia Geral*. Rio de Janeiro Guanabara Koogan,. 558.

SMITH, C., SMITH, H., SEATON, R. A. & FOX, R. 2008. Seroprevalence of schistosomiasis in African patients infected with HIV. *HIV Med*, 9, 436-9.

SOUSA-FIGUEIREDO, J. C., GAMBOA, D., PEDRO, J. M., FANCONY, C., LANGA, A. J., MAGALHAES, R. J., STOTHARD, J. R. & NERY, S. V. 2012. Epidemiology of malaria, schistosomiasis, geohelminths, anemia and malnutrition in the context of a demographic surveillance system in northern Angola. *PLoS One*, 7, e 33189.

STAMPFER, D. S., CARPINITO, G. A., RODRIGUEZ-VILLANUEVA, J., WILLSEY, L. W., DINNEY, C. P., GROSSMAN, H. B., FRITSCH, H. A. & MCDUGAL, W. S. 1998. Evaluation of NMP22 in the detection of transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol*, 159, 394-8.

STRAHAN, R., MCADAM, D. & SCHNEIDER, M. E. 2013. Sonographic response in the liver and urinary bladder of children 14 months after treatment for schistosomiasis. *Trop Doct*, 43, 71-4.

STENZL, A. 2011. Treatment of muscle-invasive and metastatic bladder cancer: Update of the EAU Guidelines; European Association of urology. 13.

STUIVER, P. C. 1984. Acute schistosomiasis (Katayama fever). *Br Med J (Clin Res Ed)*, 288, 221-2.

- STOTHARD, J.R., HUGHES, S. & ROLLINSON, D., 1996. Variation within the Internal Transcribed Spacer (ITS) of ribosomal DNA genes of intermediate snails hosts within the genus *Bulinus* (Gastropoda:Planorbidae). *Acta Tropica*, 61,1:19-29.
- TAKOUGANG, I., MELI, J., FOTSO, S., ANGWAFO, F., 3RD, KAMAJEU, R. & NDUMBE, P. M. 2004. Hematuria and dysuria in the self-diagnosis of urinary schistosomiasis among school children in Northern Cameroon. *Afr J Health Sci*, 11, 121-7.
- TALWAR, R., SINHA, T., KARAN, S. C., DODDAMANI, D., SANDHU, A., SETHI, G. S., SRIVASTAVA, A., NARANG, V., AGARWAL, A. & ADHLAKHA, N. 2007. Voided urinary cytology in bladder cancer: is it time to review the indications? *Urology*, 70, 267-71.
- THOMAS, J. E., BASSETT, M. T., SIGOLA, L. B. & TAYLOR, P. 1990. Relationship between bladder cancer incidence, *Schistosoma haematobium* infection, and geographical region in Zimbabwe. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 84, 551-3.
- TRAORE, M., TRAORE, H. A., KARDORFF, R., DIARRA, A., LANDOURE, A., VESTER, U., DOEHRING, E. & BRADLEY, D. J. 1998. The public health significance of urinary schistosomiasis as a cause of morbidity in two districts in Mali. *Am J Trop Med Hyg*, 59, 407-13.
- TSAI, M.H., MARX, K.A., ISMAIL, M.M. & TAO, L.F., 2000. Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Polymerase Chain Reaction Assay for Identification of *Schistosoma mansoni* strains sensitive or tolerance to anti-schistosomal drugs. *Jornal of Parasitology*, 86, 1:146-149.
- VAN DER WERF, M. J., DE VLAS, S. J., BROOKER, S., LOOMAN, C. W., NAGELKERKE, N. J., HABBEMA, J. D. & ENGELS, D. 2003. Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. *Acta Trop*, 86, 125-39.

- VAN DER WERF, M. J. & DE VLAS, S. J. 2004. Diagnosis of urinary schistosomiasis: a novel approach to compare bladder pathology measured by ultrasound and three methods for hematuria detection. *Am J Trop Med Hyg*, 71, 98-106.
- VAN RHIJN, B. W., VAN DER POEL, H. G. & VAN DER KWAST, T. H. 2005. Urine markers for bladder cancer surveillance: a systematic review. *Eur Urol*, 47, 736-48.
- VANCAUWENBERGHE, T., OYAERT, M., TERMOTE, J. L., MULKENS, T. & BELLINCK, P. 2013. Ureteral obstruction caused by schistosomiasis. *JBR-BTR*, 96, 292-4.
- VARGAS, T. J., LOPES, R., MORAES MDE, L., AZEVEDO, K. G. & SOUSA, M. A. 2013. Ectopic cutaneous Schistosomiasis. *An Bras Dermatol*, 88, 820-2.
- VOIETA, I., DE QUEIROZ, L. C., ANDRADE, L. M., SILVA, L. C., FONTES, V. F., BARBOSA, A., JR., RESENDE, V., PETROIANU, A., ANDRADE, Z., ANTUNES, C. M. & LAMBERTUCCI, J. R. 2010. Imaging techniques and histology in the evaluation of liver fibrosis in hepatosplenic schistosomiasis mansoni in Brazil: a comparative study. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 105, 414-21.
- WALKER, C. J., KAPLAN, G. W. & CILENTO, B. G., JR. 1997. Clinical and radiologic findings in schistosomiasis of the bladder. *Urology*, 49, 951-2.
- WANG, Y., SEBARATNAM, D. F., WONG, J., COOPER, W., WYBURN, K. R. & ERIS, J. M. 2012. Urethral stricture caused by schistosomiasis in a renal transplant recipient. *Nephrology (Carlton)*, 17, 197-8.
- WARREN, K. S., COOK, J. A., LITTELL, A. S., KAGAN, I. G. & JORDAN, P. 1973. Immunologic diagnosis of schistosomiasis. II. Further studies on the sensitivity and specificity of delayed intradermal reactions. *Am J Trop Med Hyg*, 22, 199-204.
- WARREN, D. J. J., CHRISTOPHER, W. J. & FRANKLIN, C. L. 2002. *Campbell-Walsh Urology CD*, 8th ed. Saunders Elsevier. London: 21.

- WALKER, C. J., KAPLAN, G. W. & CILENTO, B. G., JR. 1997. Clinical and radiologic findings in schistosomiasis of the bladder. *Urology*, 49, 951-2.
- WACKER, J., ZIDA, A., SITZ, C., SCHWEINFURTH, D., BRIEGEL, J., HUSER, A., FELDMEIER, H. & RICHTER, J. 2013. Female genital mutilation and female genital schistosomiasis--bourouwel, the worm: traditional belief or medical explanation for a cruel practice? *Midwifery*, 29, e73-7.
- WEINBERG, R. W. 1970. Extensive schistosomiasis of the ureter. The use of the ileal loop in its management. *Br J Urol*, 42, 136-9.
- WHO, 1990. Drugs used in parasitic diseases. , World Health Organ .Geneva .126 pp.
- WHO, 1994. Evaluation of carcinogenic risk to humans. Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. World Health Organization, IARC Monogr. 61, 45–119 6.
- WHO 1998. Guidelines for the evaluation of soil-transmitted helminthiasis and schistosomiasis at community level. World Health Organ. Geneva,53.
- WHO 2001. Control of schistosomiasis and soil-transmitted helminth infections. Fifty-fourth World Health Assembly, A54/10. Geneva, 30 March 2010.
- WHO 2002 a. Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. World Health Organ Tech Rep Ser, 912, i-vi, 1-57.
- WHO 2006. Division of control of tropical diseases schistosomiasis. Bull World Health Organ.http// Geneva. [www.who.ch/cd.4](http://www.who.ch/cd.4).
- WHO 2012. Report of the informal consultation on schistosomiasis control. WORLD HEALTH ORGANIZATION Geneva.2.
- WHO 2013.Schistosomiasis: progress report 2001 - 2011, strategic plan 2012 - 2020., 81.

WHO 2014. World Schistosomiasis Report. Geneva, World Health Organization 89, 21-28.

XIONG, J. Q., XIONG, P. X., NING, A., XU, L. P., HU, M. Y., YANG, D. P., ZU, J., AI, Y. S., ZOU, J. X., ZHOU, X. M., XIONG, X. L. & YANG, M. 2011. Gastroscopic and pathological characteristics of patients with or without schistosomiasis in Poyang Lake area. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi*, 23, 154-7.

YAJIMA, A., MIKHAILOV, A., MBABAZI, P. S., GABRIELLI, A. F., MINCHIOTTI, S., MONTRESOR, A. & ENGELS, D. 2012. Preventive Chemotherapy and Transmission Control (PCT) databank: a tool for planning, implementation and monitoring of integrated preventive chemotherapy for control of neglected tropical diseases. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 106, 215-22.

YEH, F.C., BOYLE, T.Y.Z. & XIYAN, J.M., 1999. Pop Gene version 13.1. Microsoft window based freeware for population genetic analysis. University of Alberta and center for International Forestry Research.

ZACHARIAS F, DE CARVALHO ME, GARGIONI C, TELES HM, FERREIRA CS, 2002. Schistosomiasis *mansoni* in Bananal (State of São Paulo, Brazil). III. Seroepidemiological studies in the Palha District. *Mem Inst Oswaldo Cruz (Suppl. 1)*: 19–22.

ZAGHLOUL, M. S. 2012. Bladder cancer and schistosomiasis. *J Egypt Natl Canc Inst*, 24, 151-9.

ZAGHLOUL, M. S. & GOUDA, I. 2012. Schistosomiasis and bladder cancer: similarities and differences from urothelial cancer. *Expert Rev Anticancer Ther*, 12, 753-63.



**ANEXOS**

## 6.1 Anexo I

### 6.1.1 Mapa administrativo de Angola (adaptado de Roosbroeck, et al, 2006)



- Luanda
- Bengo
- Malange

## 6.2 Anexo II

### 6.2.1 Protocolos da Unidade de Helmintologia e Malacologia Médicas (UPMM /IHMT) Método de Filtração de urina.

**Objetivo:** Pesquisa e quantificação de ovos de *Schistosoma haematobium* na urina.

Colheita de urina para pesquisa de ovos de *S. haematobium*, a colheita de urina deve ser feita de preferência entre as 10-14 horas, correspondente ao período de excreção máxima. Deve-se recomendar ao paciente para forçar o final da micção.

#### Material

Seringas de plástico de 10 ml;

Suportes de plástico para filtros (13 mm ou 16 mm de diâmetro);

Filtros de polycarbonato Millipore ou Nucleopore ( $\varnothing = 12\mu\text{m}$ , Swinnex®);

Lâminas de microscópio;

Pinças;

Microscópio;

Luvas.

#### Método

1. Colocar o filtro no suporte;
2. Agitar ligeiramente o recipiente contendo a urina ou encher a seringa com a urina e vazá-la de novo para o recipiente 2-3 vezes;
3. Com a seringa, aspirar 10 ml da urina (se a quantidade da amostra for inferior a 10 ml, registrar o volume);
4. Adaptar à seringa o suporte contendo o filtro;
5. Mantendo a seringa na posição vertical e segurando no suporte, pressionar o êmbolo para que a urina seja expelida através do filtro;
6. Retirar o suporte da seringa, enche-la com ar, colocar novamente o suporte e expelir o ar (esta operação tem por finalidade eliminar o excesso de urina e fixar melhor os ovos no filtro);
7. Retirar de novo o suporte da seringa e com ajuda da pinça, retirar o filtro Millipore e colocar sobre a lâmina e em posição invertida.

9. Contar os ovos existentes na preparação;

10. O resultado é expresso em nº de ovos/10 ml de urina.

**Nota:** Se o volume da urina analisada for inferior a 10 ml, a carga parasitária é determinada pela seguinte equação:

$$\frac{\text{Nº de ovos por 10ml de urina} = \text{nº de ovos contados} \times 10}{X}$$

Onde X = volume de urina filtrada e examinada.

### 6.2.2 Ficha de dados sociodemográficos clínicos

<b>FICHA DE DADOS BIOGRÁFICOS E SÓCIO DEMOGRÁFICOS</b>
--

Registo nº \_\_\_\_\_

Nome. \_\_\_\_\_

Idade/ anos \_\_\_\_ Data de nascimento \_\_\_\_\_ Origem HAB ☐ Outra
 Serviço ☐ Outro ☐ Sexo: Masculino ☐  
 Feminino ☐
**Profissão/ Ocupação** Agricultor ☐ Doméstica ☐ Funcionário público ☐  
 Estudante ☐ Pescador ☐ Outra ☐

Naturalidade \_\_\_\_\_ Residência \_\_\_\_\_ Proveniência \_\_\_\_\_

—

**Hábito** tabágico Sim ☐ Não ☐ , Banhos no rio Sim ☐ Não ☐Uso de água de tanque sim ☐ Não ☐ , Água canalizada Sim ☐ Não ☐
**Motivo de contacto com a água:** Higiene pessoal ☐ Acarretar água ☐ Lavagem de  
 roupa e utensílios ☐ Lazer/nadar/brincar ☐ Pesca ☐ Agricultura ☐ Hora em que  
 contacta com a água: antes das 12 h ☐ Entre as 12h e as 14h ☐ Depois das 14 h ☐
**Conhece o que é a schistosomose** Sim ☐ Não ☐ já ouviu falar sim ☐ Não ☐
**Antecedentes/patológicos** sim ☐ não ☐ quais \_\_\_\_\_  
**Tratamentos**
**Médico** \_\_\_\_ **Cirúrgico** \_\_\_\_ **Tratamento tradicional** \_\_\_\_\_
**Não/tratado** \_\_\_\_\_ **Automedicação** \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_.
**No caso de tratamento cirúrgico em que parte do corpo foi feita a****cirurgia** \_\_\_\_\_. **Título de alta descreve** \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_. **Tratamento médico** \_\_\_\_\_**tratamento tradicional** \_\_\_\_\_.

<b>FICHA DE DADOS CLÍNICOS</b>
--------------------------------

Registo nº \_\_\_\_\_

Nome. \_\_\_\_\_

Idade/ anos \_\_\_\_ Data de nascimento \_\_\_\_\_ Origem HAB ☐ Outra \_\_\_\_\_Serviço ☐ Outro \_\_\_\_\_ Sexo : Masculino ☐ Feminino ☐**Sintomas**Disúria sim ☐ Não ☐, Hematúria total Sim ☐ Não ☐, Hematúria terminal ☐Polaquúria sim ☐ Não ☐, Hipogastralgia sim ☐ Não ☐,Lombalgia sim ☐ Não ☐ outros \_\_\_\_\_.**Exame parasitológico**Amostra de urina Nº: \_\_\_\_\_ Hematúria macroscópica Sim ☐ Não ☐ positivo ☐  
Negativo ☐*Schistosoma haematobium*: Sim ☐ Não ☐ Contagem de ovos: \_\_\_\_\_Teste de **NMP22**® : Positivo ☐ Negativo ☐.Tempo de resultado : Em 5 minutos ☐ > 20 minutos ☐ \_\_\_\_\_,**Citologia** Positivo ☐ Negativo ☐

Resultado \_\_\_\_\_

**Ecografia Renal** Sem Dilatação ☐ Com dilatação ☐ cm de 1cm ☐ ≥2cm ☐Ureter visível ☐ não visível ☐.

**Ecografia vesical** parede com irregularidade ☐ sem irregularidade ☐ com massa 1cm ☐  $\geq 2$ cm ☐ Massas múltiplas ☐ Outros \_\_\_\_\_. Ecografia com alteração Renal,

Hemograma normal ☐ anormal ☐ Ureia normal ☐ anormal ☐ creatinina normal ☐ anormal ☐.

**Urografia de eliminação** sim ☐ Não ☐ ,**Rx simples** calcificação sim ☐ não ☐ Dilatação renal > 1cm sim ☐ não ☐ .Dilatação renal > 2 cm sim ☐ não ☐ Outros \_\_\_\_\_.

### Cistoscopia

Trajetó uretral, microgranulomas sim ☐ Não ☐ bexiga com hiperemia sim ☐ não ☐ pálida sim ☐ não ☐ microgranulomas sim ☐ não ☐ Litíase sim ☐ não ☐ granulomas sim ☐ Não ☐ úlceras sim ☐ não ☐ , tubérculos sim ☐ não ☐ ,meatos ureterais funcionantes sim ☐ Não ☐ , calcificação sim ☐ Não ☐ Local \_\_\_\_\_. Calcificação da parede vesical Sim ☐ Não ☐ Anterior ☐ Posterior ☐ Laterais ☐ . Massa vesical sim ☐ Não ☐ Tamanho > 1cm ☐ 2cm ☐ Múltiplas ☐ Localização \_\_\_\_\_

**Biópsia da parede vesical** \_\_\_\_\_ **Medicação rotina\*** sim ☐ Não ☐

Outros exames\*\* \_\_\_\_\_

**Resultado biópsia** \_\_\_\_\_

Conduta médica Sim ☐ Não ☐ Conduta cirúrgica sim ☐ Não ☐

Outros \_\_\_\_\_.

Melhorado sim ☐ não ☐ Curado sim ☐ não ☐ outro estado \_\_\_\_\_.

Luanda \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

O médico

\*Nitrofurantoina 100mg + Ibuprofeno, \*\*Praziquantel 40mg/kg/dose

### **6.2.3 Consentimento informado e declaração da aprovação do projeto**



## CONSENTIMENTO INFORMADO

### LESÕES CAUSADAS PELOS OVOS DE *Schistosoma haematobium* COMO FATOR DE RISCO PARA DOENÇAS CRÓNICAS URINÁRIAS DAS ZONAS ENDEMICAS DE ANGOLA.

**Entidade Promotora:** Instituto de Higiene Medicina Tropical /UNL

**Investigadora principal:** Jacinta Figueiredo; Contato Tel: 00244 -912202079; **Email:** [jacintatgcmf@hotmail.com](mailto:jacintatgcmf@hotmail.com)

**Orientadora:** Professora Doutora Maria Amélia Grácio (IHMT/ UNL)

**Co-orientadores:** Professora Doutora Silvana Belo (IHMT/ UNL); Professor Doutor Manuel Videira (SU/ HAB)

## 1. Introdução

A schistosomose urogenital é uma parasitose causada por um parasita “*Schistosoma haematobium*” que vive nos humanos (hospedeiro definitivo) e tem como hospedeiro intermediário moluscos (caracóis) de água doce que eliminam larvas (cercárias) que por sua vez infetam os humanos através da penetração ativa na pele e mucosas (oral, e conjuntival). Nos humanos estas formas vão desenvolver-se até ao estado adulto (macho e fêmea). Os ovos, postos pelas fêmeas, atingem a bexiga e outros órgãos provocando doença, para a qual existe tratamento eficaz na fase inicial mas, se não for tratada, pode causar complicações graves na bexiga, útero, próstata e noutros órgãos. Assim, temos como objetivo neste estudo: identificar as lesões causadas dos ovos de *S. haematobium* no organismo humano, através de diversos exames, para efetuarmos o tratamento adequado de tais lesões.

## 2. Procedimento do estudo

Se concordar com o estudo, deve assinar este consentimento informatizado e responder a um breve questionário (cerca de 3 minutos) com questões sobre a sua identificação, viagens, hábitos de contato com a água do rio e seus antecedentes patológicos. Precisamos de fazer exames de diagnóstico, gratuitos: para isso vai ser preciso colher amostra de urina que vai ser usada para realizar o exame parasitológico para pesquisa e identificação dos ovos, e também para rastreio de tumor de bexiga; ecografia, para verificar se existem alterações na morfologia da sua bexiga, visualizar sob visão ótica a bexiga através de um instrumento rígido que penetra na uretra até à bexiga e realizar biopsia para retirar pequeno retalho de tecido para ser analisado. Caso tenha alguma alteração nestes exames poderá ser necessário realizar outros exames como urografia de eliminação e TAC. Caso tenha a infeção vai ser medicado e se tiver alguma complicação é internado, isto vai permitir realizar o tratamento médico e cirúrgico e encaminhá-lo para o devido seguimento.

## 3. Riscos

Os exames são realizados por profissionais especializados e todos os cuidados e responsabilidades na elaboração são atribuídos aos

mesmos. As complicações podem eventualmente surgir por se tratar de exame invasivo, como no caso da cistoscopia mas é muito raro de acontecer. Qualquer situação que surja o doente será imediatamente informado e será assegurado todo o tratamento necessário no hospital.

## 4. Benefício

Não existe benefício direto por participar neste estudo. No entanto, se no decorrer do estudo for encontrado o parasita na urina e nos exames histológicos é logo informado e assistido por médico especialista para os devidos procedimentos. Ao participar neste estudo está a ajudar os investigadores a compreenderem melhor a doença que infeta muita gente e a melhorar a sua , se for caso disso.

## 5. Participação voluntária

A participação no estudo é voluntária e poderá e dela poderá desistir a qualquer momento.

## 6. Confidencialidade

As suas informações são confidenciais. Na colheita, a sua identidade só será conhecida pelo investigador. Serão colocados códigos de identificação. Só a análise estatística será divulgada.

## 7. Compensação

Não lhe será dado qualquer tipo de compensação nem terá que pagar qualquer exame pelo facto de participar no estudo.

## 8. Contatos

Poderá contactar a investigadora a qualquer momento, através do contato acima disponibilizado.

No caso de qualquer dúvida ou informação, por favor autorize a investigadora a contactá-lo.

Assinatura: \_\_\_\_\_

—

Data: \_\_\_\_\_

Assinatura do encarregado (< 18 anos)

## Declaração da aprovação do projeto de doutoramento.



### Declaração

Em conformidade com a deliberação do Conselho Científico de Outubro de 2010, foi aprovado o projecto de doutoramento com o título **“lesões causadas pelos ovos de Schistosoma hematobium como factor de risco de doenças crónicas urogenitais em adultos de zonas endémicas de Angola”** da Dr.<sup>a</sup> Jacinta Teresa Gomes Chaves de Matos Figueiredo, a ser realizado no Instituto de Higiene e Medicina Tropical.

Direcção da Faculdade de Medicina em Luanda, aos 05 de Julho de 2011.

  
**Prof. Doutor Miguel S. Bettencourt Mateus**  
(Prof. Associado)

The signature is written in blue ink over a circular purple stamp. The stamp contains the text "REPÚBLICA DE ANGOLA", "Faculdade de Medicina", "O DECANO", "Dr. Director", and "UNIVERSIDADE AGOSTINHO NETO".

## **6.3 Anexo III**

### **6.3.1 Características de Graus de tumor classificação TNM adaptado (Eble *et al.*, 2004)**

#### **Classificação da OMS de 1973 segundo diferentes graus da anaplasia:**

- Grau 1: Tumor bem diferenciado
- Grau 2: Tumor moderadamente diferenciado
- Grau 3: Tumor pouco diferenciado

#### **Classificação quanto aos tumores papilares**

- Atualizado OMS 2004 para tumores papilares:
- Papilares urotelial (tumor benigno papilar)
- Neoplasia papilar urotelial de baixo potencial maligno
- Carcinoma urotelial papilar de baixo grau
- Carcinoma urotelial papilar de alto grau

#### **Classificação do carcinoma vesical TNM de 2002 (Eble *et al.*, 2004)**

Todos os tópicos dos critérios de adequação são revistos anualmente e atualizados.

Estadiamento do câncer de bexiga:

---

	TNM
Nenhum tumor	T0
Carcinoma in situ (CIS)	TIS
Tumor papilar, não invasivo	TA
Tumor papilar, invasão de lâmina própria	T1
Invasão de músculo	T2
Tumor invade músculo superficial (camada interna)	T2A
Tumor invade músculo profundo (camada externa)	T2
Invasão de gordura perivesical	T3
Microscopicamente	T3A
Macroscopicamente (massa extravesical)	T3A
Invasão de vísceras contíguas	T4A
Invasão de parede pélvica/abdominal	T4B
Adenopatia regional ipsilateral simples a adenopatia pélvica múltipla bilateral	N1-3
Metástases à distância	M1
MX - Metástases à distância não avaliáveis	
M0 -Sem metástases à distância	
M1-Metástases à distância.	

---